

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
  - TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
  - FADED TEXT
  - ILLEGIBLE TEXT
  - SKEWED/SLANTED IMAGES
  - COLORED PHOTOS
  - BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
  - GRAY SCALE DOCUMENTS
- 

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

REC'D 15 MAY 2001

WIPO PCT



716

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts M/40002-PCT	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/00142	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 11/01/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 11/01/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK A61P9/00		
Anmelder KNOLL AKTIENGESELLSCHAFT et al.		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 10 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.  
  
☐ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).  
  
 Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☒ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☒ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  28/07/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  11.05.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter  Langer, A  Tel. Nr. +49 89 2399 7809 

**I. Grundlage des Berichts**

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):  
**Beschreibung, Seiten:**

1-22                      ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-18                      ursprüngliche Fassung

**Zeichnungen, Blätter:**

1/5-5/5                      ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/00142

- ☐ Beschreibung,      Seiten:  
☐ Ansprüche,      Nr.:  
☐ Zeichnungen,      Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

## III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- ☐ die gesamte internationale Anmeldung.  
☒ Ansprüche Nr. 1-12 (partially) as to N, IS.

### Begründung:

- ☐ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):
- ☐ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie hierzu nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
- ☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.
- ☒ Für die obengenannten Ansprüche Nr. 1-12 wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.  
*siehe Beiblatt*
2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:
- ☐ Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.
- ☐ Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

**IV. Mangelnd Einheitlichk it der Erfindung**

1. Auf die Aufforderung zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren hat der Anmelder:
  - ☐ die Ansprüche eingeschränkt.
  - ☐ zusätzliche Gebühren entrichtet.
  - ☐ zusätzliche Gebühren unter Widerspruch entrichtet.
  - ☐ weder die Ansprüche eingeschränkt noch zusätzliche Gebühren entrichtet.
2. ☒ Die Behörde hat festgestellt, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nicht erfüllt ist, und hat gemäß Regel 68.1 beschlossen, den Anmelder nicht zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren aufzufordern.
3. Die Behörde ist der Auffassung, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nach den Regeln 13.1, 13.2 und 13.3
  - ☐ erfüllt ist
  - ☒ aus folgenden Gründen nicht erfüllt ist:  
**siehe Beiblatt**
4. Daher wurde zur Erstellung dieses Berichts eine internationale vorläufige Prüfung für folgende Teile der internationalen Anmeldung durchgeführt:
  - ☒ alle Teile.
  - ☐ die Teile, die sich auf die Ansprüche Nr. beziehen.

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und d r gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche 14-17
	Nein: Ansprüche 1-12 (partially), 13, 18
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche
	Nein: Ansprüche 1-12 partially), 13-18
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche 1-18
	Nein: Ansprüche

2. Unterlagen und Erklärungen  
**siehe Beiblatt**

**VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung**

# **INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/00142

---

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:  
**siehe Beiblatt**

## **VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:  
**siehe Beiblatt**

**Zu Punkt III**

**Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit**

Da die Substanzen der **Ansprüche 1-12** nur funktionell definiert sind, konnten diese Ansprüche nur unvollständig oder gar nicht recherchiert werden (s. auch Punkt VIII, Klarheitseinwand). Das Gutachten über Neuheit und erfinderische Tätigkeit wurde daher nur für die recherchierten Teile der genannten Ansprüche erstellt.

**Zu Punkt IV**

**Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung**

Der von der Recherchenabteilung erhobene Einwand wegen mangelnder Einheitlichkeit wird aufrechterhalten.

Die verschiedenen Gruppen von Erfindungen sind:

1.   Ansprüche 1-12:     Bindungspartner für 5-HT5-Rezeptoren und ihre Verwendung zur Herstellung eines Arzneimittels.
2.   Ansprüche 13-18:   Verfahren zur Bestimmung der Affinität von Bindungspartnern für 5-HT5-Rezeptoren, und *in vitro* Screening Verfahren.

Aus den folgenden Gründen hängen diese Erfindungen/Gruppen nicht so zusammen, daß sie eine einzige allgemeine erfinderische Idee verwirklichen (Regel 13.1 PCT): Der verbindende Gegenstand der vorliegenden Gruppen von Erfindungen sind selektive Bindungspartner für 5-HT5-Rezeptoren. Da diese nicht neu sind (s. Punkt V.4) können sie nicht als verbindende erfinderische Idee dienen.

**Zu Punkt V**

**Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1.   Die vorliegende Anmeldung bezieht sich auf selektive Bindungspartner für 5-HT5-

Rezeptoren (Ansprüche 1-9), ihre Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung cerebrovaskulärer Erkrankungen wie Migräne (Ansprüche 10-12) sowie Verfahren zur Charakterisierung dieser Verbindungen, insbesondere Screening-Verfahren (Ansprüche 13-18).

2. Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen; sofern nicht anderweitig angegeben, werden die im Internationalen Recherchenbericht zitierten Passagen als die relevanten angesehen.

- D1: WO 94 18319 A (INST NAT SANTE RECH MED ;AMLAIKY NOURDINE (FR); BOSCHERT URSULA (F) 18. August 1994 (1994-08-18)  
D2: WO 94 01555 A (INST NAT SANTE RECH MED ;AMLAIKY NOURDINE (FR); BOSCHERT URSULA (F) 20. Januar 1994 (1994-01-20)  
D3: GB-A-2 105 192 (COUGHLIN SHAUN R) 23. März 1983 (1983-03-23)  
D4: CARSON: 'the 5ht5a...' GLIA, Bd. 17, Nr. 4, 1996, Seiten 317-326, XP000913723  
D5: 'Martindale', PHARMACEUTICAL PRESS, LONDON XP002140026 1993  
D6: SHIMRON: 'human 5ht5...' BIOCHEM. BIOPHYS. RES. COMMUN., Bd. 233, Nr. 1, 1997, Seiten 6-9, XP000907456  
D7: WEISS: 'expression of...' METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, Bd. 103, 1998, Seiten 227-239, XP002140017

3. Dokument D1 beschreibt die Isolierung von Liganden des Polypeptides 5-HT5b durch das Inkontaktbringen von Substanzen mit rekombinanten Zellen, die dieses Polypeptid an ihrer Oberfläche exprimieren. Insbesondere handelt es sich bei diesen Liganden um Serotonin-Agonisten und -Antagonisten für das Polypeptid 5-HT5b. Diese Liganden sind geeignet zur Behandlung von neurologischen, kardiovaskulären und psychiatrischen Erkrankungen. Ein Beispiel für einen geeigneten Liganden ist Methiothepin, für den eine Affinität mit dem Wert  $pK_i$  7.8 bestimmt wurde.

Dokument D2 beschreibt das gleiche Selektionsverfahren wie Dokument D1, jedoch ohne geeignete Beispiele für Liganden zu nennen.

Dokument D3 beschreibt, dass 5-HT5a und 5-HT5b-Rezeptoren in CHO, HeLa, COS und 3T3 NIH Fibroblasten transfiziert wurden. Die Transfektion von Gliazellkulturen mit diesen Rezeptoren führte nach Behandlung mit Serotonin zu



einem Anstieg von cAMP.

Dokument D4 beschreibt die Verwendung der Serotonin-Antagonisten Dihydroergotamin, Methysergid, Sumatriptan und Lysurid zur Behandlung von Migräne.

Dokument D5 beschreibt die Bedeutung des 5HT<sub>5a</sub>-Rezeptors für Migräne.

Dokument D6 beschreibt ein Verfahren zur Affinitätsmessung von Liganden des 5-HT-5a-Rezeptors an rekombinanten Zellen, die diesen Rezeptor exprimieren.

Dokument D7 beschreibt die Behandlung von Methiothepin zur Verhinderung von verletzungsbedingter Proliferation glatter Muskelzellen.

#### **4. Neuheit (Art. 33 (2) PCT)**

Für die Ansprüche 1-12 wurden in der vorliegenden Anmeldung keine Verbindungen genannt. Es ist nicht klar, ob die Zusammensetzungen von Beispiel 2 zu der Gruppe des angesprochenen Bindungspartner gehören. Für die folgende Beurteilung der Neuheit wurde davon ausgegangen, dass zumindest Methiothepin unter die erfindungsgemäßen Verbindungen fällt (s. auch Punkt VIII, Einwand nach Art. 5 PCT).

Die Dokumente D1 und D7 offenbaren den 5-HT<sub>5</sub> Bindungspartner Methiothepin und sind daher neuheitsschädlich im Sinne des Art. 33 (2) PCT für **Ansprüche 1-12**.

Der Gegenstand der Ansprüche 10 und 11 wird darüberhinaus von den in Dokument D4 genannten Migränetherapeutika, die an den 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptor (Beschreibung der vorliegenden Anmeldung) offenbart.

Erfindungsgemäße Affinitätsbestimmung sind in den Dokumenten D1, D2 und D6 beschrieben. Ihre Verwendung als Screeningmethode ist in den Dokumenten D1 und D2 enthalten. Die **Ansprüche 13 und 18** sind daher nicht neu im Sinne des Art. 33 (2) PCT.

Der Gegenstand der **Ansprüche 14-17** ist im Stand der Technik nicht enthalten und daher neu im Sinne des Art. 33 (2) PCT.

**5. Erfinderische Tätigkeit (Art. 33 (3) PCT)**

**Ansprüche 14-17:**

Dokument D1, das als nächstliegender Stand der Technik angesehen wird, offenbart ein Verfahren zur Affinitätsbestimmung von 5-HT5-Liganden, von dem sich der Gegenstand des Anspruchs 14 dadurch unterscheidet, daß die agonistische Wirkung des Bindungspartners bestimmt wird. Die mit der vorliegenden Erfindung zu lösende Aufgabe kann somit darin gesehen werden, alternative Verfahren zur Bestimmung der Affinität von 5-HT5-Liganden zur Verfügung zu stellen. Die in Anspruch 14 der vorliegenden Anmeldung vorgeschlagene Lösung kann aus folgenden Gründen nicht als erfinderisch betrachtet werden (Artikel 33(3) PCT):

Dokument D3 beschreibt als agonistischen Effekt von Serotonin an 5-HT5-Rezeptoren den Anstieg von cAMP und legt es dem Fachmann somit nahe, diesen Parameter zur Affinitätsbestimmung von 5-HT5-Rezeptoren zu verwenden. Die zusätzlichen Merkmale der Ansprüche 15-17 sind ebenfalls in Dokument D3 enthalten und somit ebenfalls nicht erfinderisch nach Art. 33 (3) PCT.

**6. Gewerbliche Anwendbarkeit (Art. 33 (4) PCT)**

Für die Beurteilung der Frage, ob die Gegenstände der vorliegenden **Ansprüche 10-12** gewerblich anwendbar sind, gibt es in den PCT-Vertragsstaaten keine einheitlichen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue medizinische Anwendung gerichtet sind.

**Zu Punkt VII**

**Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung**

Der erste Satz Seite 3, Paragraph 7 der Beschreibung ist unvollständig.

**Zu Punkt VIII**

**Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

Für die **Ansprüche 1-12** wurden in der vorliegenden Anmeldung keine Verbindungen genannt. Es ist nicht klar, ob die Zusammensetzungen von Beispiel 2 zu der Gruppe des angesprochenen Bindungspartner gehören. Die Beschreibung offenbart somit die Erfindung nicht ausreichend deutlich und vollständig, um es dem Fachmann zu ermöglichen, sie entsprechend der vollen Breite der Ansprüche auszuführen und widerspricht somit dem Artikel 5 PCT.

Die **Ansprüche 1-12** sind nicht klar und erfüllen die Erfordernisse des Artikels 6 PCT insofern nicht, als der Gegenstand des Schutzbegehrens nicht klar definiert ist. Die folgenden funktionellen Angaben ermöglichen es einem Fachmann nicht, festzustellen, welche technischen Merkmale notwendig sind, um die genannte/n Funktion/en durchzuführen: "Bindungspartner für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren".

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

**PCT** T 16

REC'D 27 NOV 2001

WIPO

PCT

## INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)



Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts M/40002-PCT	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/00142	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 11/01/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 11/01/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK A61P9/00		
Anmelder KNOLL AKTIENGESELLSCHAFT et al.		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.  
  
☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).  
  
 Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.

### 3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☒ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

**CORRECTED  
VERSION**

Datum der Einreichung des Antrags  28/07/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  23.08.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter  Langer, A  Tel. Nr. +49 89 2399 7809  

**I. Grundlage des Berichts**

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):  
**Beschreibung, Seiten:**

1-22                      ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-17                      eingegangen am                      31/05/2001    mit Schreiben vom    31/05/2001

**Zeichnungen, Blätter:**

1/5-5/5                      ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,      Seiten:  
☐ Ansprüche,      Nr.:  
☐ Zeichnungen,      Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit**

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- ☐ die gesamte internationale Anmeldung.  
☒ Ansprüche Nr. 1-17 (teilweise) bezüglich N, IS.

**Begründung:**

- ☐ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):
- ☐ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie hierzu nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
- ☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.
- ☒ Für die obengenannten Ansprüche Nr. 1-17 (teilweise) wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.
2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:
- ☐ Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.
- ☐ Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/00142

## V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

### 1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-10
	Nein: Ansprüche	11-17
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	
	Nein: Ansprüche	1-17
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-17
	Nein: Ansprüche	

### 2. Unterlagen und Erklärungen siehe Beiblatt

**Zu Punkt III**

**Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit**

Die in den **Ansprüchen 1-17** beschriebene Selektivität der Bindungsaffinität für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren gegenüber 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptoren war nicht Gegenstand der ursprünglich eingereichten Ansprüche und Beispiele und wurde daher nicht recherchiert. Der Gegenstand dieser Ansprüche ist daher unvollständig recherchiert.

Da die Substanzen der **Ansprüche 11-17** nur funktionell definiert und daher nicht ausreichend klar im Sinne des Art. 6 PCT sind, konnten diese Ansprüche nur unvollständig oder gar nicht recherchiert werden. Das Gutachten über Neuheit und erfinderische Tätigkeit wurde daher nur für die recherchierten Teile der genannten Ansprüche erstellt.

**Zu Punkt V**

**Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1. Die vorliegende Anmeldung bezieht in vitro-Screening Verfahren zur Identifizierung selektiver Bindungspartner für 5-HT<sub>5</sub>- Rezeptoren (Ansprüche 1-10), und ihre Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung cerebrovaskulärer Erkrankungen wie Migräne (Ansprüche 11-17).
2. Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen; sofern nicht anderweitig angegeben, werden die im Internationalen Recherchenbericht zitierten Passagen als die relevanten angesehen.

D4: CARSON: 'the 5ht5a...' GLIA, Bd. 17, Nr. 4, 1996, Seiten 317-326, XP000913723

3. Dokument D4 beschreibt die Verwendung der Serotonin-Antagonisten Dihydroergotamin, Methysergid, Sumatriptan und Lysurid zur Behandlung von



Migräne.

#### **4. Neuheit (Art. 33 (2) PCT)**

Für die **Ansprüche 11-17** wurden in der vorliegenden Anmeldung keine Verbindungen genannt. Es ist nicht klar, ob die Zusammensetzungen von Beispiel 2 zu der Gruppe des angesprochenen Bindungspartner gehören. Für die folgende Beurteilung der Neuheit wurde davon ausgegangen, dass zumindest Methiothepin und Dihydroergotamin unter die erfindungsgemäßen Verbindungen fallen (s. auch Punkt VIII, Einwand nach Art. 5 PCT).

Die Anwendung der erfindungsgemäßen Substanz Dihydroergotamin zur Behandlung von Migräne ist bekannt (Dokument D4). Die **Ansprüche 11-17** sind daher nicht neu im Sinne des Art. 33 (2) PCT.

Die Prüfung der Bindungsaffinität für 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptoren in einem Screening-Verfahren zur Identifizierung von Verbindungen zur Behandlung cerebrovasculärer Störungen ist im zitierten Stand der Technik nicht enthalten. Die **Ansprüche 1-10** erscheinen daher neu im Sinne des Art. 33 (2) PCT.

#### **5. Erfinderische Tätigkeit (Art. 33 (3) PCT)**

Die vorliegende Anmeldung nennt kein Beispiel für eine Substanz, die durch das beanspruchte Screening-Verfahren identifiziert wurde. Die **Ansprüche 1-10** sind daher nicht erfinderische im Sinne des Art. 33 (3) PCT.

Da die **Ansprüche 11-17** nicht neu sind nach Art. 33 (2) PCT, sind sie auch nicht erfinderisch gemäß Art. 33 (3) PCT.

#### **6. Gewerbliche Anwendbarkeit (Art. 33 (4) PCT)**

Für die Beurteilung der Frage, ob die Gegenstände der vorliegenden **Ansprüche 11-17** gewerblich anwendbar sind, gibt es in den PCT-Vertragsstaaten keine einheitlichen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet

sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue medizinische Anwendung gerichtet sind.

## Patentansprüche

1. In vitro-Screening-Verfahren zur Identifizierung von Verbindungen zur Behandlung cerebrovasculärer Störungen, dadurch gekennzeichnet, daß man die Affinität von Verbindungen für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren bestimmt und diejenigen 5-HT<sub>5</sub>-Bindungspartner ausliest, deren Bindungsaffinität für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren größer ist als deren Bindungsaffinität für 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptoren.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man diejenigen Verbindungen ausliest, deren Bindungsaffinität für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren mindestens um den Faktor 2 größer ist als deren Bindungsaffinität für 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptoren.
3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man diejenigen Verbindungen ausliest, deren Bindungsaffinität für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren mindestens um den Faktor 5 größer ist als deren Bindungsaffinität für 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptoren.
4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß man diejenigen Verbindungen ausliest, deren K<sub>i</sub>-Wert für die Bindung an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren auch weniger als 10<sup>-8</sup> M beträgt.
5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß man auch wenigstens eine 5-HT<sub>5</sub>-Bindungspartner-induzierte Wirkung bestimmt.
6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß man diejenigen Verbindungen mit einer agonistischen Wirkung ausliest.
7. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Bindung von GTP an G-Proteine, intrazelluläre Calcium-Spiegel, die Phospholipase C-Aktivität und/oder die cAMP-Produktion bestimmt werden.
8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß man zur Bestimmung der Bindungsaffinität und/oder Aktivität die Verbindungen mit 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren aufweisenden zellulären Systemen in Kontakt bringt.
9. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß man humane Gliom-Zelllinien oder h5-HT<sub>5</sub>-transfizierte heterologe Zelllinien verwendet.

10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß man h5-HT5-transfizierte CHO-Zellen, h5-HT5-transfizierte humane Nierenzellen, oder h5-HT5-transfizierte C-6-Gliomzellen verwendet.

5

11. Verwendung wenigstens eines Bindungspartners für 5-HT5-Rezeptoren, dessen Bindungsaffinität für 5-HT5-Rezeptoren größer ist als dessen Bindungsaffinität für 5-HT1D-Rezeptoren, zur Herstellung eines Mittels zur Behandlung cerebrovasculärer Störungen.

10

12. Verwendung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Bindungsaffinität des Bindungspartners für 5-HT5-Rezeptoren mindestens um den Faktor 2 größer ist als dessen Bindungsaffinität für 5-HT1D-Rezeptoren.

15

13. Verwendung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Bindungsaffinität des Bindungspartners für 5-HT5-Rezeptoren mindestens um den Faktor 5 größer ist als dessen Bindungsaffinität für 5-HT1D-Rezeptoren.

20

14. Verwendung nach einem der Ansprüche 11 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß der  $K_i$ -Wert für die Bindung des Bindungspartners an 5-HT5-Rezeptoren weniger als  $10^{-8}$  M beträgt.

25

15. Verwendung nach einem der Ansprüche 11 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß der Bindungspartners ein 5-HT5-Agonist ist.

30

16. Verwendung nach einem der Ansprüche 11 bis 15, zur Behandlung von Migräne.

17. Verwendung nach Anspruch 16, zur akuten Behandlung von Migräne.

35

40

45

09/1869812

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
20. Juli 2000 (20.07.2000)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 00/41472 A3

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: A61K 31/135,  
31/496, 31/4045, A61P 25/06, A61K 31/00, G01N 33/566

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/00142

(22) Internationales Anmeldedatum:  
11. Januar 2000 (11.01.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
199 00 674.1 11. Januar 1999 (11.01.1999) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von  
US): KNOLL AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE];  
D-67061 Ludwigshafen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): GARCIA-LADONA,  
Francisco, Javier [ES/DE]; Raiffeisenstrasse 9, D-76870  
Kandel (DE).

(74) Anwälte: KINZEBACH, Werner usw.; Reitstötter,  
Kinzebach & Partner, Sternwartstrasse 4, D-81679  
München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AL, AM, AT, AU,  
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE,  
DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID,  
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,  
LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL,  
PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ,  
UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,  
GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasis-  
ches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),  
europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI,  
FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent  
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE,  
SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen  
Recherchenberichts: 11. Oktober 2001

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen  
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on  
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe  
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: BINDING PARTNERS FOR 5-HT<sub>5</sub>-RECEPTORS FOR THE TREATMENT OF MIGRAINE

(54) Bezeichnung: BINDUNGSPARTNER FÜR 5-HT<sub>5</sub>-REZEPTOREN ZUR MIGRÄNEBEHANDLUNG

(57) Abstract: The invention relates to selective binding partners for 5-HT<sub>5</sub>-receptors, methods, in particular screening methods, for identifying and characterizing such binding partners, as well as pharmaceutical compositions containing said binding partners and their use in the treatment of cerebrovascular diseases such as migraine.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft selektive Bindungspartner für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren, Verfahren zur Identifizierung und Charakterisierung solcher Bindungspartner insbesondere in Form von Screening-Verfahren, sowie pharmazeutische Zusammensetzungen, die diese Bindungspartner enthalten, und deren Verwendung zur Behandlung cerebrovaskulärer Erkrankungen wie Migräne.

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation :  Nicht klassifiziert		A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/41472  (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 20. Juli 2000 (20.07.00)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/00142 (22) Internationales Anmeldedatum: 11. Januar 2000 (11.01.00)  (30) Prioritätsdaten: 199 00 674.1 11. Januar 1999 (11.01.99) DE  (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): KNOLL AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-67061 Lud- wigshafen (DE).  (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): GARCIA-LADONA, Fran- cisco, Javier [ES/DE]; Raiffeisenstrasse 9, D-76870 Kandel (DE).  (74) Anwälte: KINZEBACH, Werner usw.; Reitstötter, Kinzebach & Partner, Sternwartstrasse 4, D-81679 München (DE).		(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).  Veröffentlicht Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.	
(54) Title: BINDING PARTNERS FOR 5-HT <sub>5</sub> -RECEPTORS FOR THE TREATMENT OF MIGRAINE (54) Bezeichnung: BINDUNGSPARTNER FÜR 5-HT <sub>5</sub> -REZEPTOREN ZUR MIGRÄNEBEHANDLUNG (57) Abstract <p>The invention relates to selective binding partners for 5-HT<sub>5</sub>-receptors, methods, in particular screening methods, for identifying and characterizing such binding partners, as well as pharmaceutical compositions containing said binding partners and their use in the treatment of cerebrovascular diseases such as migraine.</p> (57) Zusammenfassung <p>Die vorliegende Erfindung betrifft selektive Bindungspartner für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren, Verfahren zur Identifizierung und Charakterisierung solcher Bindungspartner insbesondere in Form von Screening-Verfahren, sowie pharmazeutische Zusammensetzungen, die diese Bindungspartner enthalten, und deren Verwendung zur Behandlung cerebrovaskulärer Erkrankungen wie Migräne.</p>			

# **LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss der PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland			TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauritanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland		
CM	Kamerun			PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

**Bindungspartner für 5-HT5-Rezeptor n zur Migränebehandlung**

Die vorliegende Erfindung betrifft Bindungspartner für 5-HT5-Rezeptoren, Verfahren zur Identifizierung und Charakterisierung solcher Bindungspartner, sowie diese enthaltende pharmazeutische Zusammensetzungen und deren Verwendung zur Behandlung cerebrovaskulärer Erkrankungen wie Migräne.

- 10 Wenigstens sieben verschiedene Rezeptorklassen vermitteln die mannigfaltigen physiologischen Aktivitäten, die einer Beteiligung des Neurotransmitters Serotonin (5-Hydroxytryptamin, kurz 5-HT) zugeschrieben werden. Sie werden entsprechend einer international anerkannten Klassifikation mit 5-HT1, 5-HT2, 5-HT3, 5-HT4, 5-HT5, 15 5-HT6 und 5-HT7 bezeichnet. Die meisten dieser Klassen umfassen darüber hinaus weitere unterscheidbare Rezeptortypen. So gehören zur 5-HT1-Klasse Rezeptoren, welche sich in wenigstens fünf Unterklassen einteilen lassen, die mit 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT1C, 5-HT1D und 5-HT1E bezeichnet werden (Boess F.G. und Martin I.L., 20 Neuropharmacology 33:275-317 (1994)).

- Die 5-HT5-Klasse wurde erstmals beschrieben von Plassat et al., The EMBO Journal Bd. 11 Nr. 13, S. 4779-4786 (1992). Man unterscheidet 5-HT5A- und 5-HT5B-Rezeptoren (Erlander et al., Proc. 25 Natl. Acad. Sci. USA 90:3452-3456 (1993)). Es bestehen nur geringe Sequenzhomologien zwischen 5-HT5 und anderen 5-HT-Rezeptoren. Das pharmakologische Profil dieser Rezeptoren unterscheidet sich deutlich. Mit molekularbiologischen Techniken gelang die Lokalisierung von 5-HT5-Rezeptoren im Riechkolben, im Hippocampus, 30 im Cortex, in den Zerebralventrikeln, im Corpus Callosum und im Kleinhirn. Mittels immunhistochemischer Methoden konnte gezeigt werden, daß 5-HT5-Rezeptoren vornehmlich auf Astrocyten exprimiert werden (Carson et al., GLIA 17:317-326 (1996)). Astrocyten liegen direkt an der Basalmembran von Gehirnkapillaren der Bluthirnschranke an. Eine anormale Astrocyten-Endothelium-Struktur geht mit einem Verlust der Bluthirnschranke einher. Die genaue Bedeutung der Astrocyten ist unklar. Sie scheinen Transportaufgaben und konnektive Funktionen wahrzunehmen. Reaktive Astrocyten wurden in Zusammenhang mit reaktiver Gliosis bei einer Reihe von 40 pathologischen Gehirnveränderungen und neuropsychiatrischen Erkrankungen beobachtet. Infolge von Gehirnverletzungen verändern sie ihre Morphologie. Das Proteinexpressionsmuster ändert sich und Wachstumsfaktoren werden produziert. In vitro-Untersuchungen an kultivierten Astrocyten haben 5-HT5-Rezeptor-vermittelte Ant- 45 worten erkennen lassen. So wird innerseits vermutet, daß sie an Erholungsprozessen des Gehirns nach Störungen beteiligt sind, an-



dererseits ist aber auch nicht auszuschließen, daß sie zur Schadensentstehung oder sogar zu einer Schadensvermehrung beitragen.

Migräne ist eine ZNS-Erkrankung, die große Bevölkerungsteile betrifft. Sie äußert sich in den meisten Fällen durch immer wiederkehrende Kopfschmerzen, von denen schätzungsweise 8 Mio Personen, d.h. 3-5 % aller Kinder, 7% aller Männer und 14% aller Frauen, betroffen sind. Wenngleich eine genetische Prädisposition propagiert wird, scheinen die Ursachen doch vielschichtig zu sein  
10 (Diener H.C. et al., Arzneimitteltherapie 15:387-394 (1997)).

Es dominieren zwei Hypothesen. Die schon seit langem bekannte Gefäß-Theorie schlägt als Ursache einen Dilatationsvorgang des inneren und äußeren zerebralen Gefäßsystems vor. Die neurogene  
15 Theorie stützt sich auf eine Ausschüttung vasoaktiver Neurotransmitter, vornehmlich Neuropeptide, wie Substanz P und Neurokinin, aus Axonen der Vaskulatur infolge einer Stimulierung bestimmter Gehirngewebe innervierender Ganglien, was zu entzündlichen Reaktionen und somit zu Schmerz führen soll.

20 Eine Kausaltherapie zur Behandlung von Migräne gibt es derzeit noch nicht. Zwei verschiedene Behandlungsmethoden kommen momentan zur Anwendung. Eine erste, prophylaktische, Therapie zur Vorbeugung gegen wiederkehrende Migräneattacken und eine zweite, symptomatische, Therapie zur Unterdrückung akuter Symptome bei Attacken.  
25 Prophylaktisch werden migränespezifische Wirkstoffe, wie Sanmigran<sup>R</sup>, Nocerton<sup>R</sup>, Desernil<sup>R</sup> und Vidora<sup>R</sup>, aber auch gewöhnlich für andere Indikation verwendete Wirkstoffe, wie Beta-Blocker, antiemetische Wirkstoffe wie Sibelium<sup>R</sup>, Antidepressiva wie Laro-  
30 xyl<sup>R</sup>, oder antiepileptische Wirkstoffe wie Depakin<sup>R</sup>, verabreicht. Im Rahmen der Akuttherapie gibt man Analgetika, wie Aspirin<sup>R</sup>, Paracetamol oder Optalidon<sup>R</sup>, nichtsteroidale Antiinflammata, wie Cebutid<sup>R</sup>, Voltaren<sup>R</sup>, Brufen<sup>R</sup>, Ponstyl<sup>R</sup>, Profenid<sup>R</sup>, Apranx<sup>R</sup> und Naprosin<sup>R</sup> gegen den Schmerz und Entzündungen, Ergotalkaloide, wie  
35 Ergotamin, Dihydroergotamin, die eine Vasokonstriktion auslösen können, oder Substanzen der Triptan-Familie, wie Sumatriptan, Naramid<sup>R</sup>, und AscoTop<sup>R</sup> mit hoher Affinität für 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptoren. Letztere Substanzen wirken als Agonist und blockieren die Vasodilatation.

40 Die genannten Wirkstoffe sind allerdings nicht optimal für die Behandlung von Migräne geeignet. Nichtopioide Analgetika haben häufig Nebenwirkungen. Der komplexe Wirkungsmechanismus der Ergotalkaloide führt infolge der starken peripheren Vasokonstriktion  
45 zu Nebenwirkungen wie Hypertonie und Gangrän. Zu der Triptan-Familie gehörende Verbindungen sind ebenfalls nicht völlig zufriedenstellend (Pfaffrath V. Münch. med. Wschr. 625-626 (1998)).

Sumatriptan (Imigran<sup>R</sup>), inner der effektivsten und am häufigsten eingetzten Wirkstoff gegen akute Migräneattacken, passiert aufgrund ausgeprägter Hydrophilie die Blut-Hirn-Schranke nicht. In 28 % der Patienten ist dieser Wirkstoff wirkungslos, die oralen Dosen liegen mit 50-100 mg recht hoch. Als Gegenanzeigen sind koronare Vasospasmen, Hypertonie, Nieren- und Leberstörungen bekannt geworden.

Bislang hat man Verbindungen mit selektiver Affinität für 5-HT<sub>1</sub>-Rezeptoren zur Behandlung von Migräne in Betracht gezogen (Goadsby P.J. CNS Drugs 10:271-286 (1998); Saxena P.R. Exp. Opin. Invest. Drugs 581-593 (1996)). Beispielsweise gilt Sumatriptan als ausgesprochen selektiver Ligand für 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptoren, weshalb die Fachwelt bemüht war, diese Bindungseigenschaften und die dadurch vermittelten vasokonstriktiven Aktivitäten zu optimieren. Ähnliches gilt für 5-HT<sub>1B</sub>- und 5-HT<sub>1F</sub>-Rezeptorliganden. So wurden Serien von Wirkstoffen entwickelt, die den geschilderten Problemen allerdings auch nicht abhelfen konnten.

- 20 Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, die, vorzugsweise akute, Behandlung migräneartiger cerebrovaskulärer Erkrankungen mit ausreichender Wirksamkeit und geringen Nebenwirkungen zu ermöglichen.
- 25 Überraschenderweise wurde nun gefunden, daß Substanzen mit vergleichsweise hoher Bindungsaffinität für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren die gewünschten Wirkungen vermitteln können.

Ein Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind daher selektive Bindungspartner für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren, die dadurch gekennzeichnet sind, daß deren Bindungsaffinität für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren größer ist als für einen oder mehrere von 5-HT<sub>5</sub> verschiedene 5-HT-Rezeptoren.

- 35 Der Begriff "Bindungspartner für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren" beschreibt Substanzen, welche an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren binden und daher auch als 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptorliganden bezeichnet werden können.

oder metallkomplexartige koordinative Bindungen gehören. Zusätzlich zu den vorstehend genannten, reversiblen molekularen Wechselwirkungen können auch irreversible Wechselwirkungen zwischen Bindungspartner und Rezeptor in Betracht kommen, wie z.B. kovalente Bindungen.

- 45 Unter Selektivität versteht man die Eigenschaft eines Bindungspartners, vorzugsweise an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren zu binden.

So b sitzen Bindungspartner Bindungsaffinitäten für 5-HT5-Rezeptoren, die größer sind als für einen oder mehrere von 5-HT5 verschiedene 5-HT-Rezeptoren, also insbesondere die oben genannten 5-HT-Rezeptorklassen 5-HT1, 5-HT2, 5-HT3, 5-HT4, 5-HT6 und 5-HT7 zuzuordnenden Rezeptoren. Ist die Bindungsaffinität für 5-HT5-Rezeptoren eines Bindungspartners größer als die eines von 5-HT5 verschiedenen 5-HT-Rezeptors, so spricht man von einer in Bezug auf den von 5-HT5 verschiedenen 5-HT-Rezeptor selektiven Bindung dieser Bindungspartner an 5-HT5-Rezeptoren. Besondere Bindungspartner sind diejenigen, deren Bindungsaffinität für 5-HT5-Rezeptoren größer ist als für wenigstens einen und insbesondere sämtliche 5-HT1-Rezeptoren, insbesondere für 5-HT1D- und/oder 5-HT1B-Rezeptoren. Bindungspartner, deren Bindungsaffinität für 5-HT5-Rezeptoren größer ist als für sämtliche von 5-HT5 verschiedene 5-HT-Rezeptoren, stellen eine weitere besondere Klasse von Bindungspartnern dar.

Für die vorstehend geschilderte Selektivität ist maßgebend, daß sich die Bindungsaffinitäten für 5-HT5-Rezeptoren einerseits und für einen oder mehrere von 5-HT5 verschiedene 5-HT-Rezeptoren andererseits hinreichend unterscheiden. Bevorzugt sind Affinitätsunterschiede, wonach Bindungsaffinitäts-Verhältnisse von wenigstens 2, vorteilhafter von wenigstens 5, besonders vorteilhaft von wenigstens 10, vorzugsweise von wenigstens 20, besonders bevorzugt von wenigstens 50 und insbesondere von wenigstens 100 vorliegen.

Gemäß einer Ausführungsform hemmen erfindungsgemäße Bindungspartner die Bindung von Vergleichsbindungspartnern, wie 5-HT (5-Hydroxytryptamin) oder 5-CT (5-Carboxamidotryptamin), an 5-HT5-Rezeptoren kompetitiv.

Unter kompetitiver Hemmung versteht man, daß erfindungsgemäße Bindungspartner mit einem Vergleichsbindungspartner, im vorliegenden Fall z.B. 5-HT oder 5-CT, um die Bindung an den Rezeptor konkurrieren, d.h. die Bindung des einen behindert die Bindung des anderen.

Gemäß einer weiteren Ausführungsform hemmen erfindungsgemäße Bindungspartner die Bindung von Vergleichsbindungspartnern, wie 5-HT (5-Hydroxytryptamin) oder 5-CT (5-Carboxamidotryptamin), an 5-HT5-Rezeptoren nicht-kompetitiv.

Unter nicht-kompetitiver Hemmung versteht man, daß erfindungsgemäße Bindungspartner über ihre Bindung an den Rezeptor die Bindung eines Vergleichsbindungspartners, im vorliegenden Fall z.B.

5-HT oder 5-CT, modulieren, insb. sonderes dessen Bindungsaffinität verringern.

Zumindest für den Fall der kompetitiven Hemmung, also der reversiblen Bindung gilt der Grundsatz, daß die Verdrängung eines Bindungspartners durch einen anderen mit abnehmender Bindungsaffinität des einen bzw. zunehmender Bindungsaffinität des anderen im Hinblick auf den Rezeptor zunimmt. Zweckmäßigerweise besitzen daher erfindungsgemäß verwendbare Bindungspartner eine hohe Bindungsaffinität für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren. Eine derartige Bindungsaffinität gestattet einerseits eine wirksame Verdrängung natürlich vorkommender Bindungspartner für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren, wie beispielsweise Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT) selbst, wobei die erforderliche Konzentration an erfindungsgemäß verwendbarem Bindungspartner zur Bindung einer bestimmten Menge dieses Bindungspartners an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren mit zunehmender Bindungsaffinität abnimmt. Im Hinblick auf die medizinische Anwendung werden daher Bindungspartner bevorzugt, deren Bindungsaffinität so groß ist, daß diese als Wirkstoff im Rahmen einer wirksamen medizinischen Behandlung in vertretbaren Mengen verabreicht werden können. Erfindungsgemäße Bindungspartner werden daher vorzugsweise in Tagesdosen von etwa 0,01 bis 100 mg/kg Körpergewicht und insbesondere von etwa 0,1 bis 15 mg/kg Körpergewicht bei parenteraler Gabe und 1 bis 30 mg/kg Körpergewicht bei oraler Gabe verabreicht.

Eine Möglichkeit, die Bindungsaffinität auszudrücken, bieten die oben angesprochenen Kompetitionsexperimente, mit denen man in vitro diejenige Konzentration an erfindungsgemäßigem Bindungspartner ermittelt, die einen anderen Vergleichsbindungspartner zu 50% an der Rezeptorbindungsstelle verdrängt (IC<sub>50</sub>-Werte). So läßt sich auch die kompetitive Hemmung der Bindung von 5-CT an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren dahingehend auswerten, daß erfindungsgemäß bevorzugte Bindungspartner halbmaximale Hemmkonstanten IC<sub>50</sub> von weniger als 10<sup>-7</sup> M, vorzugsweise von weniger als 10<sup>-8</sup> M und insbesondere von weniger als 10<sup>-9</sup> M aufweisen.

Die Bindungsaffinität erfindungsgemäßer Bindungspartner kann auch über die Hemmkonstante K<sub>i</sub> ausgedrückt werden, die man im allgemeinen ebenfalls mit Kompetitionsexperimenten in vitro bestimmt. Für die Bindung an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren weisen erfindungsgemäße Bindungspartner vorzugsweise K<sub>i</sub>-Werte von weniger als 10<sup>-8</sup> M, vorteilhafterweise von weniger als 10<sup>-9</sup> M und insbesondere bevorzugt von weniger als 10<sup>-10</sup> M auf. K<sub>i</sub>-Werte erfindungsgemäßer Verbindungen liegen z.B. im Bereich von 1·10<sup>-7</sup> M bis 7·10<sup>-7</sup> M oder im Bereich von 1·10<sup>-8</sup> M bis 1·10<sup>-7</sup> M.

Gemäß einer weiteren Ausführungsform binden erfindungsgemäße Bindungspartner in Bezug auf die Selektivität an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren mit den oben beschriebenen vorteilhaften Bindungsaffinitäten.

5

Gemäß einer weiteren Ausführungsform binden erfindungsgemäße Bindungspartner in Bezug auf alle von 5-HT<sub>5</sub> verschiedenen 5-HT-Rezeptoren selektiv an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren mit den oben beschriebenen vorteilhaften Bindungsaffinitäten.

10

Besonders vorteilhaft sind Bindungspartner, die mit den vorstehend beschriebenen Affinitäten und Selektivitäten an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren binden, die von Gliazellen und insbesondere von Astrocyten exprimiert werden.

15

Erfindungsgemäß ist die humane Rezeptorvariante bevorzugtes Target für die eingesetzten Bindungspartner.

Die Bindung erfindungsgemäßer Bindungspartner an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren ist an eine Effektorfunktion gekoppelt. Bindungspartner können agonistisch oder antagonistisch sowie teilagonistisch und/oder teilantagonistisch wirken.

Als Agonisten werden erfindungsgemäß Verbindungen bezeichnet, die ganz oder teilweise die Aktivität von 5-HT an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren nachahmen.

Als Antagonisten werden erfindungsgemäß Verbindungen bezeichnet, welche die agonistische Aktivität von 5-HT an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren blockieren können.

Gemäß einer besonderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung werden als Bindungspartner 5-HT<sub>5</sub>-Agonisten bereitgestellt. Der Ausdruck "5-HT<sub>5</sub>-Agonist" bezeichnet Bindungspartner, die eine teil- bis vollagonistische Wirkung auslösen. Ein Bindungspartner, der eine teilagonistische Wirkung am 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptor auslöst, besitzt erfindungsgemäß ausreichend agonistische Aktivität, um im Rahmen einer wirksamen medizinischen Behandlung in vertretbaren Mengen verabreicht werden zu können. Im Rahmen dieser Ausführungsform bevorzugt werden Bindungspartner mit wenigstens 50%-iger agonistischer Wirkung. Besonders bevorzugt sind diejenigen Bindungspartner mit wenigstens 80%-iger agonistischer Wirkung und insbesondere diejenigen mit im wesentlichen vollagonistischer Wirkung ( $E_{max}$ ).

45

Gemäß einer besonderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung werden Bindungspartner zur Verfügung gestellt, deren Bindung zumindest an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren in 5-HT<sub>5</sub>-transfizierten CHO-Zellen eine Stimulierung der GTP-Bindung an membrangebundene G-Proteine, eine agonist-induzierte Veränderung intrazellulärer Calcium-Spiegel, eine Induktion der Phospholipase C-Aktivität und/oder eine agonist-induzierte Veränderung der cAMP-Produktion bewirkt. Was die Veränderung intrazellulärer Calcium-Spiegel angeht, so stellt die Verwendung von Bindungspartnern, die eine Erhöhung intrazellulärer Calcium-Spiegel bewirken, eine besondere Ausführungsform der Erfindung dar.

Zu dieser Ausführungsform gehören auch Bindungspartner, die in bekannten Tiermodellen für cerebrovaskuläre Erkrankungen, insbesondere für Migräne, wirksam sind, und/oder die bestimmte in vivo-Wirkungen in Gehirnbereichen induzieren, insbesondere genomische Antworten im Gehirn hervorrufen, beispielsweise die Expression von Transkriptionsfaktoren wie c-fos, c-jun, zif268 oder Homer-Isoformen (Brakeman P.R. et al., Nature 386:284-288 (1997)).

Bevorzugt sind Bindungspartner, die auch in Bezug auf ihre Effektorfunktion im oben beschriebenen Sinn selektiv für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren sind.

Gemäß einer Ausführungsform sind erfindungsgemäße 5-HT<sub>5</sub>-Bindungspartner niedermolekulare, meist synthetische Verbindungen.

Gemäß einer weiteren Ausführungsform sind erfindungsgemäße 5-HT<sub>5</sub>-Bindungspartner 5-HT<sub>5</sub>-spezifische Antikörper. Es kann sich um polyklonale Antisera, monoklonale Antikörper, Antikörperfragmente, wie F(ab), Fc, etc., chimäre und rekombinante Antikörper handeln. Die Herstellung solcher Antikörper kann in an sich bekannter Weise erfolgen. Als Immunogen kann man 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptor als solchen oder antigene, in der Regel an übliche Trägerproteine gekoppelte Fragmente davon verwenden.

Gemäß einer weiteren Ausführungsform sind erfindungsgemäße 5-HT<sub>5</sub>-Bindungspartner Aptamere, das sind Nukleinsäuren, in der Regel Oligonukleotide, mit ausreichender Affinität zu 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren.

Assays zur Bestimmung von Bindungsaffinitäten erfindungsgemäßer Bindungspartner zu 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren sind im Prinzip bekannt. Dies kann beispielsweise dadurch geschehen, daß man die kompetitive Hemmung der Bindung eines Vergleichsbindungspartner an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren durch die zu untersuchende Substanz bewertet. Als Ver-

gleichsbindungspartner eignen sich bekannt Liganden für 5-HT-R -  
zeptor n, wie 5-HT oder 5-CT oder LSD. Diese werden zweckmäßiger-  
weise so markiert, daß sich der n Bindung an 5-HT-Rezeptoren ana-  
lytisch mit Standardmethoden verfolgen läßt. Bevorzugt sind ra-  
5 dioaktive und optische Markierungen. Bei Bindungsstudien an  
5-HT5-Rezeptoren wird erfindungsgemäß 5-CT oder LSD insbesondere  
in Form von [ $^3\text{H}$ ]-LSD verwendet. Die Bindungsaffinitäten können als  
halbmaximale Hemmungskonstante  $\text{IC}_{50}$  oder als Hemmkonstante  $K_i$  aus-  
gedrückt werden. Dieses Verfahren dient vorzugsweise zum primären  
10 Screening. Die SPA- oder die FlashPlate-Technologie kommt bevor-  
zugt zur Anwendung.

Die Bindung zu untersuchender Bindungspartner kann man auch an  
5-HT-Rezeptoren direkt bestimmen. Die Bindungsaffinität ausdrück-  
15 kende Hemmkonstanten  $K_i$  können beispielsweise kalorimetrisch, d.h.  
durch Messung der freigesetzten Bindungsenergie, bestimmt werden.

Zur Bestimmung von Selektivitäten bestimmt man in gleicher Weis-  
- gegebenenfalls unter Verwendung der für den jeweiligen Rezept r  
20 spezifischen Liganden - die Bindungsaffinität der zu untersuchen-  
den Bindungspartner für andere 5-HT-Rezeptoren und vergleicht die  
erhaltenen Werte.

Auch Effektorfunktionen können mit Hilfe bekannter funktionell r  
25 Assays sowohl in vitro als auch in vivo qualitativ oder quantita-  
tiv bewertet werden.

Der Beurteilung einer agonistischen Aktivität können all diejeni-  
gen Effekte zugrundegelegt werden, die durch die Bindung von 5-HT  
30 an 5-HT5-Rezeptoren hervorgerufen werden. Erfindungsgemäß bevor-  
zugt ist es, die Auswirkungen auf die Bindung von GTP an G-Pro-  
teine, auf interzelluläre Calcium-Spiegel, auf die Phospholipase  
C-Aktivität und/oder auf die cAMP-Produktion zu bewerten. Diese  
Verfahren dienen vorzugsweise zum sekundären Screening. Auch hier  
35 kommt die SPA- oder die FlashPlate-Technologie vorteilhaft zur  
Anwendung.

Die GTP-Bindung an G-Proteine kann untersucht werden, indem man  
ein nicht hydrolysierbares Analogon von GTP verwendet, beispiels-  
40 weise [ $^{35}\text{S}$ ]GTPyS, dessen Bindung radiologisch untersucht werden  
kann. Diese Untersuchung wird vorzugsweise an 5-HT5-Rezeptor auf-  
weisenden Membranen durchgeführt.

Zur Messung intrazellulärer Calcium-Spiegel kann man geeignete  
45 Calcium-Sonden, in der Regel Calcium-Ch latoren, beispielsweise  
fluoreszierende Verbindungen, wie Fura-2-acetylmethylester oder  
Fluo-3-AM, einsetzen. Diese Untersuchung wird vorzugsweis an

5-HT<sub>5</sub>-Rezeptor aufweisenden Zellkulturen, insbesondere an Einzelzellen durchgeführt.

Die Phospholipase C-Aktivität läßt sich anhand der von ihr katalysierten Reaktionen bestimmen, beispielsweise dem Einbau von Myo-Inositol, das zu Nachweiszwecken vorzugsweise als [<sup>3</sup>H]-Myo-Inositol radioaktiv markiert ist, oder die Umsetzung von PPIP<sub>2</sub> zu IP<sub>3</sub>, wobei auch das PPIP<sub>2</sub> vorzugsweise als [<sup>32</sup>P]PIP<sub>2</sub> radioaktiv markiert ist. Diese Untersuchungen werden vorzugsweise an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptor aufweisenden Einzelzellen durchgeführt.

Die cAMP-Produktion kann mit Hilfe des cAMP-Bindungsproteins bestimmt werden. Diese Untersuchung wird vorzugsweise an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptor aufweisenden Einzelzellen durchgeführt.

15

Gegebenfalls bestimmt man auch die Effektorfunktion, d.h. die Aktivität von erfindungsgemäßen Bindungspartnern für andere 5-HT-Rezeptoren. Dies geschieht zweckmäßigerweise unter Berücksichtigung der für 5-HT<sub>5</sub> und andere 5-HT-Rezeptoren ermittelten Bindungsaffinitäten, also insbesondere unter Berücksichtigung der Selektivität.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind daher auch Verfahren zur Identifizierung und Charakterisierung erfindungsgemäßer Bindungspartner. Diese und weitere in ähnlicher Weise geeignete Verfahren können die Grundlage bilden für in vitro-Screening-Verfahren, mit denen man aus einer Vielzahl verschiedener Verbindungen diejenigen auslesen kann, die im Hinblick auf eine künftige Anwendung am aussichtsreichsten zu sein scheinen. Beispielsweise können mittels kombinatorischer Chemie umfangreiche Stoffbanken angelegt werden, die Myriaden potentieller Wirkstoffe umfassen. Das Durchmustern kombinatorischer Substanzbibliotheken nach Stoffen mit gewünschter Aktivität ist automatisierbar. Screening-Roboter dienen der effizienten Auswertung der vorzugsweise auf Mikrotiterplatten angeordneten Einzelassays. So betrifft die vorliegende Erfindung auch Screening-Verfahren, d.h. sowohl Primär- als auch Sekundärscreening-Verfahren, bei denen vorzugsweise wenigstens eines der nachfolgend beschriebenen Verfahren zur Anwendung kommt. Kommen mehrere Verfahren zur Anwendung, so kann das zeitlich versetzt oder gleichzeitig an ein und derselben Probe oder an verschiedenen Proben einer zu untersuchenden Substanz geschehen.

Eine besonders effektive Technologie zur Durchführung derartiger Verfahren ist der im Bereich des Wirkstoffscreenings bekannte Scintillation Proximity Assay, kurz SPA genannt. Kits und Komponenten zur Durchführung dieses Assays können kommerziell bezogen



werd n, beispielsweise bei Amersham Pharmacia Biotech. Im Prinzip  
werd n solubilisierete oder membrangebundene Rezeptor n auf Scin-  
tillationssubstanz nhaltenden, kleinen Fluor mikrosphären immo-  
bilisiert. Bindet beispielsweise ein Radioligand an di immobili-  
5 sierten Rezeptoren, so wird die Scintillationssubstanz zur Lich-  
temission angeregt, da die räumliche Nähe zwischen Scintillati-  
onssubstanz und Radioligand gegeben ist.

Eine weitere besonders effektive Technologie zur Durchführung  
10 derartiger Verfahren ist die im Bereich des Wirkstoffscreenings  
bekannte FlashPlate<sup>R</sup>-Technologie. Kits und Komponenten zur Durch-  
führung dieses Assays können kommerziell bezogen werden, bei-  
spielsweise bei NEN<sup>R</sup> Life Science Products. Dieses Prinzip basiert  
ebenfalls auf Mikrotiterplatten (96er oder 384er), die mit Scin-  
15 tillationssubstanz beschichtet sind.

Die vorstehend genannten Assays sind dem Fachmann im Prinzip be-  
kannt.

20 Ein erstes erfindungsgemäßes Verfahren dient zur Bestimmung der  
Affinität und/oder Selektivität von Bindungspartnern für  
5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren. Zu diesem Zweck bringt man den Bindungspartner  
mit 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren in Kontakt und bestimmt die Bindungsaffini-  
tät.

25 Ein weiteres erfindungsgemäßes Verfahren betrifft die Bestimmung  
der Aktivität von Bindungspartnern für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren, d.h. die  
Bestimmung agonistischer, teilagonistischer, antagonistischer  
und/oder teilantagonistischer Wirkung. Zu diesem Zweck bringt man  
30 den Bindungspartner mit 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren in Kontakt und bewertet  
die durch die Bindung hervorgerufenen Effekte.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform werden Bindungspartner  
einem primären Screening unterzogen, indem man ihre Bindungsaffi-  
35 nität zu 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren mit dem oben beschriebenen [<sup>3</sup>H]-5-CT-  
oder [<sup>3</sup>H]-LSD-Kompetitionsexperiment bestimmt. Diejenigen Bin-  
dungspartner, die eine Hemmkonstante IC<sub>50</sub> im Bereich von 10<sup>-6</sup> M  
oder weniger aufweisen, werden dann einem sekundären Screening  
unterzogen, indem man ihre Effektorfunktion insbesondere im Hin-  
40 blick auf die GTP-Bindung und/oder die intrazellulären Calcium-  
Spiegel in der oben beschriebenen Weise bewertet. Schließlich  
werden die so ausgewählten Bindungspartner zur Selektivitätsbe-  
stimmung einem Gegen-Screening unterzogen, indem man ihre Bin-  
dungsaffinität zu weiteren 5-HT-Rezeptoren im wesentlichen in der  
45 vorstehend beschriebenen Art und Weise - gegebenenfalls unter  
Verwendung der für den jeweiligen Rezeptor spezifischen Liganden  
- bestimmt. Beispielsweise kann man [<sup>3</sup>H]-8-Hydroxy-di-propylamino-

tetralin ([<sup>3</sup>H]-8-DPAT) für Bindungsstudien an 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren verwendet, während 5-HT<sub>1B</sub>- und 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptoren mit [<sup>3</sup>H]-5-CT-Kompetitionsexperimenten untersucht werden können.

5 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren werden vorzugsweise in Form zellulärer Systeme zur Verfügung gestellt, d.h. in Form von Membranen, Zellen, Zellverbänden, Geweben oder Organen, die 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren tragen. Derartige zelluläre Systeme können 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren von Natur aus exprimieren, sie können aber auch durch geeignete genetische Manipulation, z.B. durch Transfektion, zur 5-HT<sub>5</sub>-Expression veranlaßt sein. Im Rahmen der h5-HT<sub>5</sub> betreffenden bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung kann man hierzu insbesondere die in Rees S. et al, FEBS Letters 335:242-246 (1994) beschriebenen kodierende Sequenz verwenden (Zugangsnummer X81411). Humane Gliom-Zelllinien werden als natürliche, 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren aufweisende zelluläre Systeme bevorzugt. Von den h5-HT<sub>5</sub>-transfizierten heterologen Zelllinien werden diejenigen bevorzugt, die das h5-HT<sub>5</sub>-Gen stabil exprimieren. Zu nennen sind beispielsweise h5-HT<sub>5</sub>-transfizierte CHO-Zellen, h5-HT<sub>5</sub>-transfizierte humane Nierenzellen, insbesondere h5-HT<sub>5</sub>-transfizierte HEK293-Zellen, oder h5-HT<sub>5</sub>-transfizierte C-6-Gliomzellen.

Zur Bestimmung von Selektivität, Affinität und Aktivität erfindungsgemäßer Bindungspartner können auch Gehirngewebeschnitte und native Membranen aus Gehirnteilen verwendet werden. Werden radioaktive Marker eingesetzt, so erfolgt die Auswertung von Gewebeschnitten vorzugsweise autoradiographisch.

Die Wirksamkeit erfindungsgemäßer Bindungspartner zur Behandlung von Migräne wird vorzugsweise an Tiermodellen bestimmt, die auf Mechanismen aufbauen, die der Entstehung von Migräne zugrunde liegen können.

Beispielsweise kann man die durch erfindungsgemäße Bindungspartner induzierte Proteinextravasation bestimmen. Dieser Assay kann in an sich bekannter Weise durchgeführt werden, beispielsweise indem man eine Fluoreszenzfärbung (Johnson K.W. and Phebus L.A. (1998) J. Neurosci. Methods 81: 19-24) oder isotopisch markiertes Albumin (Petty M.A. et al., (1997) Eur. J. Pharmacol. 336: 127-136) verwendet. Hierzu werden die Tiere nacheinander mit der Testverbindung und mit [<sup>125</sup>I]-Albumin oder Fluoreszenzfarbstoff behandelt. Danach wird das trigeminale Ganglion elektrisch stimuliert. Die in der Dura Mater akkumulierte Radioaktivität oder Fluoreszenz wird bestimmt. Die Antimigräne-Aktivität erfindungsgemäßer Bindungspartner zeigt sich an der durch Stimulation trigeminaler Ganglion induzierten Proteinextravasation.

Ein weiteres Modell basiert auf der Verteilung des carotiden Blutflusses. Auch dieser Test ist an sich bekannt (Saxena P.R. et al., (1998) Eur. J. Pharmacol. 351: 329-339). Hierzu werden radioaktiv Mikrosphären in die Carotis injiziert. Im Anschluß an 5 in Stabilisierungsphase werden die Tiere mit einer Testverbindung behandelt, und die im Gehirn akkumulierte Radioaktivität wird in einem Mikro- $\beta$ -Zähler bestimmt.

Geeignet ist auch die Messung der Nitroglycerin-induzierten 10 c-fos-Genexpression und -Translokation. Dazu werden Tiere mit Nitroglycerin und der zu testenden Verbindung behandelt. Die c-fos-Genexpression und -Proteintranslokation in den Kern wird mit in-situ Hybridisierung oder immunhistochemisch bestimmt (Garcia-Ladona F.J. et al., (1994) Mol. Brain Res. 21: 75-84; Garcia-Ladona 15 F.J. et al., (1997) J. Neurosci. Res 50: 50-61).

Weitere Modelle sind aus Fernandes de Lima V.M. et al. (1993) Brain Res. 614: 445-51 (Retinal Spreading depression) and aus Kawahara N. et al. (1999) Exp. Neurol. 108: 27-36 (Cortical Spreading Depression) bekannt. 20

Die erfindungsgemäße Verwendung von 5-HT<sub>5</sub>-Bindungspartnern beinhaltet im Rahmen der Behandlung ein Verfahren. Dabei wird dem zu behandelnden Individuum, vorzugsweise einem Säuger, insbesondere 25 einem Menschen, Nutz- oder Haustier, eine wirksame Menge eines oder mehrerer 5-HT<sub>5</sub>-Bindungspartner, in der Regel der pharmazeutischen und tierarzneilichen Praxis entsprechend formuliert, verabreicht. Ob eine solche Behandlung angezeigt ist und in welcher Form sie zu erfolgen hat, hängt vom Einzelfall ab und unterliegt 30 einer medizinischen Beurteilung (Diagnose), die vorhandene Anzeichen, Symptome und/oder Fehlfunktionen, Risiken, bestimmte Anzeichen, Symptome und/oder Fehlfunktionen zu entwickeln, und weitere Faktoren miteinbezieht.

35 Die Behandlung erfolgt in der Regel durch einmalige oder mehrmalige tägliche Verabfolgung gegebenenfalls zusammen oder im Wechsel mit anderen Wirkstoffen oder wirkstoffhaltigen Präparaten, so daß einem zu behandelnden Individuum eine Tagesdosis von etwa 0,001 g bis 10 g, vorzugsweise von etwa 0,001 g bis etwa 1 g zu- 40 geführt wird.

Die Erfindung betrifft auch die Herstellung pharmazeutischer Mittel zur Behandlung eines Individuums, vorzugsweise eines Säugers, insbesondere eines Menschen, Nutz- oder Haustieres. Die erfindungsgemäßen Bindungspartner werden gewöhnlich in Form von pharmazeutischen Zusammensetzungen verabreicht, die einen pharmazeutisch verträglich n Exzipienten mit wenigstens einem erfindungs-

gemäß n Bindungspartner und gegebenenfalls weiter n Wirkstoffen umfassen. Diese Zusammensetzungen können beispielsweise auf oralem, rektalem, transdermale, subkutanem, intravenösem, intramuskulärem oder intranasalem Weg verabreicht werden.

5

Beispiele geeigneter pharmazeutischer Formulierungen sind fest Arzneiformen, wie Pulver, Puder, Granulate, Tabletten, Pastillen, Sachets, Cachets, Dragees, Kapseln wie Hart- und Weichgelatine- kapseln, Suppositorien oder vaginale Arzneiformen, halb feste Arzneiformen, wie Salben, Cremes, Hydrogele, Pasten oder Pflaster, sowie flüssige Arzneiformen, wie Lösungen, Emulsionen, insbesondere Öl-in-Wasser-Emulsionen, Suspensionen, beispielsweise Lotionen, Injektions- und Infusionszubereitungen, Augen- und Ohrentropfen. Auch implantierte Abgabevorrichtungen können zur Verabreichung erfindungsgemäßer Bindungspartner verwendet werden. Ferner können auch Liposomen, Mikrosphären oder Polymermatrices zur Anwendung kommen.

Bei der Herstellung der Zusammensetzungen werden erfindungsgemäße Bindungspartner gewöhnlich mit einem Exzipienten vermischt oder verdünnt. Exzipienten können feste, halb feste oder flüssige Materialien sein, die als Vehikel, Träger oder Medium für den Wirkstoff dienen.

Zu geeigneten Exzipienten gehören beispielsweise Lactose, Dextrose, Sucrose, Sorbitol, Mannitol, Stärken, Akaziengummi, Calciumphosphat, Alginate, Traganth, Gelatine, Calciumsilikat, mikrokristalline Cellulose, Polyvinylpyrrolidon, Cellulose, Wasser, Sirup und Methylcellulose. Ferner können die Formulierungen pharmazeutisch akzeptable Träger oder übliche Hilfsstoffe, wie Gleitmittel, beispielsweise Talg, Magnesiumstearat und Mineralöl; Netzmittel; emulgierende und suspendierende Mittel; konservierende Mittel, wie Methyl- und Propylhydroxybenzoate; Antioxidantien; Antireizstoffe; Chelatbildner; Dragierhilfsmittel; Emulsionsstabilisatoren; Filmbildner; Gelbildner; Geruchsmaskierungsmittel; Geschmackskorrigentien; Harze; Hydrokolloide; Lösemittel; Lösungsvermittler; Neutralisierungsmittel; Permeationsbeschleuniger; Pigmente; quaternäre Ammoniumverbindungen; Rückfettungs- und Überfettungsmittel; Salben-, Creme- oder Öl-Grundstoffe; Silikon-Derivate; Spreithilfsmittel; Stabilisatoren; Sterilanzien; Suppositoriengrundlagen; Tabletten-Hilfsstoffe, wie Bindemittel, Füllstoffe, Gleitmittel, Sprengmittel oder Überzüge; Treibmittel; Trocknungsmittel; Trübungsmittel; Verdickungsmittel; Wachse; Weichmacher; Weißöle umfassen. Eine diesbezüglich Ausgestaltung beruht auf fachmännischem Wissen, wie beispielsweise in Fiedler, H.P., Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angren-

zende Gebiete, 4. Auflage, Aulendorf: ECV-Editio-Kantor-Verlag, 1996, dargest llt ist.

G genstand d r vorliegend n Erfindung ist auch di Verwendung ei-  
5 nes Bindungspartner für 5HT-5-Rezeptoren und insbesondere der  
vorstehend genannten besonderen und bevorzugten Ausführungsformen  
erfindungsgemäßer Bindungspartner zur Behandlung migräneartiger  
cerebrovasculärer Störungen , vor allem zur Behandlung von Mi-  
gräne und anderen vaskulär bedingten Kopfschmerzen, insbesondere  
10 anfallartigen Kopfschmerzen vom Migränetyp. Hierzu gehören die  
als einfache und als klassische Migräne bezeichneten Erkrankungen  
ohne bzw. mit begleitenden neurologischen Funktionsstörungen,  
echte und atypische Migräne, und auch speziellere Erkrankungen  
dieses Typs, beispielsweise Migraine accompagnée, sogenannte Mi-  
15 gräneäquivalente, Digestivmigräne, Migraine ophtalmique, ophtal-  
moplegische Migräne, Migraine rouge, auch als Cluster-Kopfschmerz  
(Horton-Syndrom) bezeichnet, Zervikalmigräne. Unter Behandlung  
wird sowohl eine prophylaktische Therapie, insbesondere die Vor-  
beugung gegen wiederkehrende Attacken, beispielsweise als Inter-  
20 vallbehandlung, als auch die Behandlung bei akuten Symptomen,  
insbesondere während der Kopfschmerzphasen, verstanden. Eine er-  
folgreiche Behandlung führt zu einer Minderung der Intensität der  
Symptome, insbesondere des Kopfschmerzes, neurologischer Funkti-  
onsstörungen, z.B. visueller, sensorischer, motorischer Störungen  
25 und Sprachstörungen, Übelkeit und Brechreiz, und/oder der Anfall-  
häufigkeit. Eine akute Behandlung von Migräne mit Bindungspart-  
nern ist bevorzugt. Gegenstand der Erfindung ist insbesondere  
auch die Verwendung der genannten Bindungspartner für die Behand-  
lung solcher Formen oben aufgeführter Erkrankungen, an deren Ent-  
30 stehung und/oder Verlauf 5-HT5-Rezeptoren beteiligt sind, d.h.  
Erkrankungen, die durch eine 5-HT5-Rezeptoraktivität moduliert  
werden.

Der Begriff "Störung" im erfindungsgemäßen Sinne bezeichnet Ano-  
35 malien, die in der Regel als krankhafte Zustände angesehen werd n  
und sich in Form bestimmter Anzeichen, Symptome und/oder Fehl-  
funktionen zu erkennen geben können. Die erfindungsgemäße Behand-  
lung kann auf einzelne Störungen sprich Anomalien bzw. krankhafte  
Zustände gerichtet sein, es können aber auch mehrere gegebenen-  
40 falls ursächlich miteinander verbundene Anomalien zu Mustern,  
d.h. Syndromen, zusammengefaßt sein, die erfindungsgemäß behan-  
delt werden können.

Eine Behandlung im erfindungsgemäßen Sinne umfasst nicht nur die  
45 Behandlung akuter oder chronischer Anzeichen, Symptome und/oder  
F hlfunktionen sondern auch eine vorbeugende Behandlung (Prophy-  
laxe) insbesondere als Rezidiv- oder Phasen-Prophylax . Di Be-

handlung kann symptomatisch, beispielsweise als Symptomsuppression ausgerichtet sein. Sie kann kurzzeitig erfolgreich, mittelfristig ausgerichtet sein, oder es kann sich auch um eine Langzeitbehandlung, beispielsweise im Rahmen einer Erhaltungstherapie, handeln.

Zur Migränebehandlung brauchbare Bindungspartner können mit einer geringeren, einer im wesentlichen gleichen, oder einer höheren Affinität an 5-HT<sub>5</sub> binden als an einen bestimmten von 5-HT<sub>5</sub> verschiedenen Rezeptor.

So gehören zu Bindungspartnern für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren im Hinblick auf die erfindungsgemäße Verwendung insbesondere diejenigen, deren Bindungsaffinität zu 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren verglichen mit der Affinität zu 5-HT<sub>1</sub>-Rezeptoren, insbesondere 5-HT<sub>1B</sub> und/oder 5-HT<sub>1D</sub>, so hoch ist, daß sie für die erfindungsgemäße Verwendung in vorteilhafter Weise geeignet sind. Dies setzt nicht notwendigerweise eine vergleichsweise selektivere Bindung an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren voraus, wenngleich selektive Bindungspartner für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren eine besondere Ausführungsform der vorliegenden Erfindung sind.

Beispielsweise kann man Bindungspartner verwenden, die hochaffin sind sowohl zu 5-HT<sub>5</sub> als auch zu 5-HT<sub>1</sub>-Rezeptoren, insbesondere zu 5-HT<sub>1B</sub> und/oder 5-HT<sub>1D</sub>. Hochaffin bedeutet in diesem Zusammenhang  $K_1$ -Werte in der Regel im Bereich von  $1 \cdot 10^{-9}$  M bis  $1 \cdot 10^{-6}$  M. Gemäß einer besonderen Ausführungsform besitzen brauchbare Bindungspartner im hochaffinen Bereich zu 5-HT-Rezeptoren ein Bindungsprofil, daß durch eine Bindungsaffinität zu 5-HT<sub>5</sub> gekennzeichnet ist, die im Vergleich zu anderen Bindungsaffinitäten dieses Bereichs im wesentlichen gleich oder nur wenig geringer ist. Faktoren von 10 oder weniger können von Vorteil sein.

Gemäß einer weiteren Ausführungsform der Erfindung werden die zuvor beschriebenen selektiven 5-HT<sub>5</sub>-Bindungspartner eingesetzt.

Gemäß einer besonderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung werden Bindungspartner eingesetzt, deren Bindung zumindest an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren in 5-HT<sub>5</sub>-transfizierter CHO-Zellen eine Veränderung der Agonist-induzierten Stimulierung der GTP-Bindung an membrangebundene G-Proteine, eine Veränderung intrazellulärer Calcium-Spiegel, eine Veränderung der Agonist-induzierten Induktion der Phospholipase C-Aktivität und/oder eine Veränderung der cAMP-Produktion bewirkt. Was die Veränderung intrazellulärer Calcium-Spiegel angeht, so stellt die Verwendung von Bindungspartnern, die eine Erhöhung intrazellulärer Calcium-Spiegel bewirken, eine besondere Ausführungsform der Erfindung dar.

Die vorliegende Erfindung wird anhand der nachfolgenden Beispiele näher erläutert, ohne darauf beschränkt zu sein.

## 5 Referenzbeispiel 1

### h5-HT5-Rezeptor exprimierende HEK293-Zellen und CHO-Zellen

Das für den humanen 5-HT5-Rezeptor kodierende Gen wurde in an  
10 sich bekannter Weise über 3'-5'-RT-PCR (RACE-System, Boehringer Mannheim) aus menschlichen Geweben isoliert. Die Gensequenz wurde dann in ein das Neomycinresistenz-Gen tragendes Plasmid inser-  
tiert (pcDNA3; Invitrogen, Deutschland) und in *E. coli* den Her-  
stellerhinweisen entsprechend amplifiziert. Eine Präparation des  
15 resultierenden Plasmids wurde mit Lipofectamin<sup>R</sup> (Gibco Life-Scien-  
ces, Deutschland) vermischt, und HEK293-Zellen wurden in Petri-  
schalen (2,5 cm) mit einer dünnen Schicht dieses Transfektionsge-  
mischtes inkubiert. Danach wurde das Transfektionsgemisch durch  
Neomycin-haltiges Kulturmedium ersetzt. Überlebende Zellen wurden  
20 weiter in DMEM-F12-Medium kultiviert, das mit 10% fötalem Kälber-  
serum, 2 mM Glutamin und Antibiotika (90 mg Streptomycin, 90 mg  
Penicillin) ergänzt war. Die Zellen wurden bei 5% CO<sub>2</sub>, 95% Luft-  
feuchtigkeit und 37°C bis zur Konfluenz aufgezogen.

25 In analoger Weise erhält man h5-HT5-Rezeptor exprimierende CHO-  
Zellen.

## Referenzbeispiel 2

### 30 Zellmembran-Präparation

Die hier verwendete Methode lehnt sich im wesentlichen an be-  
kannte Methoden zur Präparation von Zellmembranen aus Zellen an  
(Findlay J.B.C. und Evans W.H. Biological Membranes, Practical  
35 Approach (1987)). Die gemäß Referenzbeispiel 1 kultivierte Zellen  
wurden vorsichtig von der Oberfläche des Kulturgefäßes abgeschabt  
und 10 min bei 180xg in DMEM-F12-Medium zentrifugiert. Die gewon-  
nenen Zellpellets wurden in 5 mM EDTA, 5 mM EGTA, 0,1 mM PMSF und  
3 mM Benzamidin enthaltendem 5 mM Tris-HCl-Puffer (pH: 7,6; Puf-  
40 fer A) resuspendiert und 15 min bei 4°C inkubiert. Die Zellsuspension  
wurde in einem Ultraturrax<sup>R</sup> (15000 UPM) homogenisiert (6x3s)  
und 1 min bei 1000xg und 4°C zentrifugiert. Das Pellet wurde in  
Puffer A resuspendiert und, wie vorstehend beschrieben, homogeni-  
siert und zentrifugiert. Die Überstände aus beiden Schritten wur-  
45 den gesammelt und 20 min bei 40000xg und 4°C zentrifugiert. Das  
Pellet wurde in Puffer A resuspendiert und homogenisiert (1x15s).  
Die Membransuspension wurde 20 min bei 40000xg und 4°C zentrifu-

gi rt. Das r sultierend Pellet wurde in 10% Glyc rin und 1% Rin-  
ders rumalbumin enthaltendem Puffer A resuspendiert. Es wurd n  
Aliquots ingefroren und bei -80°C bis zum Gebrauch aufbewahrt.

### 5 Referenzbeispiel 3

#### Kinetik der Sättigungsbindung von [<sup>3</sup>H]-5-CT

Die Methodik ist im wesentlichen bekannt (Rees S. et al., FEBS  
10 Letters 335:242-246 (1994)). Gemäß Referenzbeispiel 2 gewonnene  
Membranen (200 µl) wurden bei einem Gesamtvolumen von 600 µl in 1  
mM EDTA enthaltendem 100 mM Tris-HCl (pH: 7,7; Puffer B) mit an-  
steigenden Konzentrationen an [<sup>3</sup>H]-5-CT (96 Ci/mmol) inkubiert,  
wobei zur Bestimmung der spezifischen Bindung 10 µM Methiothepin  
15 zugesetzt wurde, während zur Bestimmung der Gesamtbindung Methio-  
thepin nicht zugesetzt wurde. Es wurde 90 min bei 30°C inkubiert.  
Danach wurden die Proben filtriert, wobei man ein Skatron<sup>R</sup>-Filtrationssystem und in 0,3% Polyethylenimid eingebettete GF/B-Filter verwendete. Die Filter wurden mit 9 ml Puffer B bei 4°C gewaschen.  
20 Die auf den Filtern zurückgehaltene Radioaktivität wurde mittels Flüssigscintillationszählung gemessen, wobei man 5 ml Ultima-Gold (Packard) verwendete.

#### Referenzbeispiel 4

25

##### a) [<sup>3</sup>H]-5-CT-Bindungskompetition

Die Experimente zur Bindungskompetition erfolgten im wesentlichen  
in Anlehnung an bekannte Untersuchungen (Rees et al., 1994). Ge-  
30 mäß Beispiel 2 gewonnene Membranen (200 µl) wurden in einem Ge-  
samtvolumen von 600 µl in Puffer B mit ansteigenden Konzentrationen  
ausgewählter Verbindungen in Gegenwart von 2 nM [<sup>3</sup>H]-5-CT in-  
kubiert. Nach einer Inkubationszeit von 75 min bei 30°C wurden die  
Proben mit Puffer B bei 4°C über in 0,3% Polyethylenimid eingebet-  
35 teten GF/B-Filtern filtriert. Die Filter wurden mit 9 ml Puffer B  
gewaschen. Die auf den Filtern zurückgehaltene Radioaktivität  
wurde wie in Referenzbeispiel 3 bestimmt. Die Gesamtbindung wird  
definiert als diejenige Bindung des Radioliganden, die ohne Zu-  
satz weiterer Verbindungen beobachtet wurde. Die nicht-spezifische  
40 Bindung wurde definiert als diejenige Bindung von [<sup>3</sup>H]-5-CT,  
die in Gegenwart von 10 µM Methiothepin beobachtet wurde. Es kön-  
nen auch ähnliche Systeme verwendet werden, die durch Verwendung  
von Mikrotiterplatten einen hohen Probendurchsatz und in Sekun-  
därscreening gestatten.

45



Die Sättigungsparameter  $r_d$  und  $r$  [ $^3\text{H}$ ]-5-CT-Bindung wurden sowohl durch nicht-lineare Regressionsanalyse als auch aus linearer Auftragungen bei Verwendung der SigmaPlot-Software (Jandel Scientific, Germany) bestimmt. Es wurden Konkurrenzkurven aufgestellt, in denen die radioaktive Bindung als prozentualer Anteil der Gesamtbindung ausgedrückt ist. Halbmaximale Hemmkonstanten  $\text{IC}_{50}$  und Hill-Koeffizienten ( $n_H$ ) wurden mittels nicht-linearer Regressionsanalyse ermittelt.

10 b) Identifizierung von h5-HT5-Rezeptorliganden durch HTS unter Verwendung der FlashPlate-Technologie.

96-Well-FlashPlates, die mit h5-HT5-Membranen beschichtet sind, können von Bio Signal Inc. (Kanada) bezogen werden. [ $^3\text{H}$ ]-LSD wurde in Tris-HCl-Puffer, der 10 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0,5 mM EDTA und 0,5% BSA enthält, auf eine geeignete Konzentration verdünnt. Die Radioligand-Lösung wurde in die Wells (25  $\mu\text{l}$ ) gegeben, die entweder Testverbindung enthielten oder nicht. Die Platten wurden 180 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und das radioaktive Signal wurde mit einem Mikro- $\beta$ -Zähler (Wallac) gemessen. Die nicht spezifische Bindung wurde mit Methiothepin bestimmt. [ $^3\text{H}$ ]-LSD besitzt eine Affinität von 12 nM. Mit zunehmender Bindungsaffinität der Testverbindung nahm das radioaktive Signal von [ $^3\text{H}$ ]-LSD ab.

25 Referenzbeispiel 5

Bestimmung der Agonist-induzierten Stimulierung der [ $^{35}\text{S}$ ]GTP $\gamma$ S-Bindung

30 [ $^{35}\text{S}$ ]GTP $\gamma$ S-Bindungsassays sind bekannt. Der vorliegende Assay wurde in Anlehnung an die zuvor beschriebene Methode von Hilf, G. und Jakobs, K.H. (Eur. J. Mol. Pharmacol. 225:245-252 (1992)) durchgeführt. Es wurden Wirkstoff-induzierte Veränderungen der [ $^{35}\text{S}$ ]GTP $\gamma$ S-Bindung an Membranen aus stabil mit dem h5HT5-Rezeptor-  
35 gen transfizierten HEK293-Zellen gemessen (siehe Referenzbeispiele 1 und 2). Die Zellmembranen (12  $\mu\text{g}$ ) wurden mit 6,75 mM  $\text{MgCl}_2$ , 150 mM NaCl, 1 mM DTT, 1 mM EDTA, 10  $\mu\text{M}$  GDP und [ $^{35}\text{S}$ ]GTP $\gamma$ S enthaltendem 50 mM Triethanolamin-HCl-Puffer (pH: 7.5) inkubiert. Im Anschluß an eine 60-minütige Inkubation bei 30°C mit oder ohne  
40 Zusatz der zu testenden Wirkstoffe wurde das Testgemisch (100  $\mu\text{l}$ ) rasch über GF-B-Filtern bei Verwendung einer Skatron<sup>®</sup>-Filtrationsvorrichtung filtriert. Die Filter wurden rasch mit 100 mM NaCl und 5 mM  $\text{MgCl}_2$  enthaltendem 50 mM Tris-HCl-Puffer (9 ml; pH: 7,5; 4°C) gewaschen. Die auf den Filtern zurückgehaltene Radioaktivität  
45 wurde mittels Scintillationsspektrometrie bestimmt, wobei man Ultima Gold-Scintillationsflüssigkeit verwendete. Ebenfalls verwendet werden können ähnliche Systeme, die durch Verwendung von Mi-

krotiterplatten in n hohen Durchsatz und ein S kundärscreening g statten.

Di Wirkstoffaktivität n wurden als proz ntualer Anteil der in  
5 Abwesenheit des Wirkstoffes gemessenen Grundbindung ausgedrückt.  
Die Anpassung der Kurven erfolgte mit einer Software zur nicht-  
linearen Regressionsanalyse (SigmaPlot, Jandel Scientific,  
Deutschland) gemäß der allgemeinen Gleichung  $E = (L \cdot E_{\max}) / (L + EC_{50})$ ,  
worin E die Wirkung, L die Ligandkonzentration,  $E_{\max}$  die Maximal-  
10 wirkung und  $EC_{50}$  diejenige Konzentration, die 50% der Maximalwir-  
kung induziert, bedeutet.

#### Referenzbeispiel 6

#### 15 Bestimmung der Agonist-induzierten Veränderung intrazellulärer Calciumspiegel

Die Methode ist bekannt (Kao J.P.Y. Methods in Cell Biology  
40:155-181 (1994)). Wie in Referenzbeispiel 1 beschrieben, wurden  
20 h5HT5-Rezeptor exprimierende HEK293-Zellen in Kulturgefäßen auf-  
gezogen. Die Zellen wurden vorsichtig abgeschabt, bevor sie kon-  
fluent waren. Die Zellen wurden mit Fura-2 markiert, indem man  
mit Fura-2-acetylmethylester (Sigma) bei Raumtemperatur inku-  
bierte. Die Zellen wurden bei 180xg 10 min zentrifugiert und in  
25 DMEM-F12-Medium ohne Serum resuspendiert und bei 37°C, 5% CO<sub>2</sub> und  
95% Luftfeuchtigkeit 45 min inkubiert.

Intrazelluläre Calciumspiegel wurden mit einem Fluoreszenzmikros-  
kop bestimmt, das mit einem geeigneten Filteraustauschsystem aus-  
30 gestattet war (Olympus/Hamamatsu). Es wurde das Fluoreszenzver-  
hältnis (340 nm / 380 nm) mit der Argus<sup>R</sup>-Software bestimmt. Die  
intrazellulären Calciumspiegel wurden über kurze Zeit in einzel-  
nen Zellen ohne den Zusatz von Wirkstoffen und dann 30 min nach  
Zugabe des zu testenden Wirkstoffs beobachtet. Ebenfalls verwen-  
35 det werden können ähnliche Systeme, die durch die Verwendung von  
Mikrotiterplatten einen hohen Durchsatz und ein Sekundärscreening  
gestatten.

In analoger Weise kann die Modulierung intrazellulärer Ca<sup>2+</sup>-Spie-  
40 gel im HTS bewertet werden. Dazu wurden h5-HT5-Rezeptor exprimie-  
rende CHO-Zellen über Nacht in 96-Well-Platten kultiviert  
(30.0000 - 80.000 Zellen/Well). Die Zellen wurden eine Stunde mit  
1 mM Fluo-3-AM, 10% Pluronsäure und 2,5 mM Probencid enthaltendem  
HEPES-Puffer markiert und gewaschen. Zu j dem W ll wurde eine  
45 Testverbindung gegeb n. Zur Bestimmung der Calciumspiegel wurde  
die Fluoreszenz-Intensität mit einem fluorometrisch arbeitendem

Plattenlesegerät (Fluorometric Imaging Plate Reader; FLIPR) abgelesen.

#### Referenzbeispiel 7

5

#### Bestimmung der Agonist-induzierten Phospholipase C-Aktivität

Die Methode ist im wesentlichen bekannt (Garcia-Ladona F.J. et al., Neuroreport 4:691-694 (1993)). Die Zellen wurden 24 h mit 10 0,125  $\mu$ M [ $^3$ H]Myo-Inositol inkubiert. Nicht eingebautes [ $^3$ H]Myo-Inositol wurde aus dem Medium entfernt und durch 10 mM LiCl enthaltendem Krebs-Henseleit-Puffer ersetzt. Nach 10-minütiger Inkubation wurde der zu testende Wirkstoff zugesetzt. Nach 45 min wurde die Reaktion gestoppt, indem man das Stimulationsmedium durch de- 15 stilliertes Wasser ersetzte. Verwendet man Gewebeproben, geht man in ähnlicher Weise vor (Garcia-Ladona et al., 1993). Die Zellen wurden eingefroren und bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert. Es wurde die Produktion von [ $^3$ H]Inositolmonophosphat mittels bekannter chromatographischer Methoden bestimmt. Eine ähnliche Methode kann mit Gewebe-Mini- 20 prismen zur Anwendung kommen. Die Bestimmung der Phospholipase C-Stimulierung wurde ebenfalls in ähnlicher Weise durchgeführt, indem man Membranfraktionen, wie in Referenzbeispiel 2 beschrieben, präparierte und mit [ $^{32}$ P]PIP<sub>2</sub> und Wirkstoffen inkubiert. In diesem Fall wurde die Produktion von IP<sub>3</sub> bestimmt. Es wurden auch be- 25 kannte Verfahren optimiert, um auf Mikrotiterplatten basierende Systeme zu verwenden. Kommerziell erhältliche Materialien gestatten die Ausdehnung auf Analysen mit hohem Durchsatz und die Durchführung eines Sekundärscreenings.

#### 30 Referenzbeispiel 8

#### Bestimmung der Agonist-induzierten Veränderung der cAMP-Produktion

35 Die verwendete Methode ist im wesentlichen bekannt (Strada S.S. et al., Methods in Neurotransmission receptor analysis: 89-110 (1990)). Zellen wurden 10 min in Kulturmedium ohne Serum und Antibiotika inkubiert. Es wurde 15 min auf  $95^{\circ}\text{C}$  erwärmt, um die Reaktion zu stoppen. Die Zellproben wurden eingefroren und bei  $-80^{\circ}\text{C}$  40 gelagert. cAMP-Spiegel wurden mit kommerziell erhältlichen Kits bestimmt, die das cAMP-Bindungsprotein verwenden. Es wurden auch bekannte Verfahren optimiert, um auf Mikrotiterplatten basierende Systeme zu verwenden. Kommerziell erhältliche Materialien gestatten die Ausdehnung auf Analysen mit hohem Durchsatz und die 45 Durchführung eines Sekundärscreenings.

## Referenzbeispiel 1

## Gewebepräparation

- 90 min nach Verabreichung des Wirkstoffs (oral, intraperitoneal, intravenös oder intracerebroventriculär) wurden die Versuchstiere enthauptet. Das gesamte Gehirn wurde rasch aus dem Schädel entfernt, auf Trockeneis gefroren und bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert. Rattenhirnschnitte ( $15\text{ }\mu\text{m}$ ) wurden bei  $-20^{\circ}\text{C}$  in einem Cryostat erhalten, auf Gelatine-beschichtete Objektträger aufgebracht und bei  $-30^{\circ}\text{C}$  bis zum Gebrauch gelagert.

## Beispiel 1

- Gemäß Referenzbeispiel 3 wurde die Bindungsaffinität von  $[^3\text{H}]\text{-5-CT}$  an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren bestimmt. Figur 1 zeigt eine Auftragung von gebundenem  $[^3\text{H}]\text{-5-CT}$  in Abhängigkeit der  $[^3\text{H}]\text{-5-CT}$ -Konzentration. Es wurde eine Dissoziationskonstante von  $K_d = 0.570\text{ nM}$  bestimmt. Die Rezeptorbindungsichte (B) variierte je nach klonaler Zelllinie in einem Bereich von 900-28000 fmol/mg Protein.

## Beispiel 2

- Gemäß Referenzbeispiel 4 wurden die Bindungsaffinitäten serotoninergischer Verbindungen anhand der  $[^3\text{H}]\text{-5-CT}$ -Bindungskompetition bestimmt. Folgende  $\text{IC}_{50}$ -Werte wurden erhalten:

Verbindung	$\text{IC}_{50}\text{ [M]}$
R(+)-8-OH-DPAT	$6,75 \cdot 10^{-7}$
Methiothepin	$6,2 \cdot 10^{-10}$
Dihydroergotamin	$1,79 \cdot 10^{-8}$
Sumatriptan	$7,6 \cdot 10^{-6}$
Methysergid	$1,48 \cdot 10^{-7}$
R(+)-Lisurid	$8,2 \cdot 10^{-9}$
Buspiron	inaktiv

- In einer weiteren Testreihe wurden auch die Hemmkonstanten  $K_i$  folgender Verbindungen bestimmt ( $K_i = \text{IC}_{50}/(1+C/K_d)$ ), wobei C die Konzentration an  $[^3\text{H}]\text{-5-CT}$  ist und  $K_d$  gemäß Beispiel 1 bestimmt wurde):

	Verbindung	K <sub>i</sub> [M]
	R(+)-8-OH-DPAT	1,25 · 10 <sup>-7</sup>
	5-CT	1,44 · 10 <sup>-9</sup>
5	Dihydroergotamin	4,05 · 10 <sup>-9</sup>
	Sumatriptan	8,12 · 10 <sup>-7</sup>
	Methysergid	1,54 · 10 <sup>-8</sup>

### 10 Beispiel 3

Gemäß Referenzbeispiel 5 wurde die Wirkstoff-induzierte Bindung von GTP an G-Proteine untersucht. Die Kopplung von 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren an G-Proteine in HEK293-Zellen war evident. Die typischen serotoninergen Agonisten 5-HT und 5-CT induzierten einen Anstieg der [<sup>35</sup>S]GTPγS-Bindung an die Zellmembranen von über 40 % über dem Grundwert (siehe Figur 2). Der 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptor benötigt GDP für die durch Agonisten vermittelte Kopplung an G-Proteine (siehe Figur 3A). Der 5-HT-Effekt war dosisabhängig (siehe Figur 4) mit einer EC<sub>50</sub> von 2,6 μM.

### Beispiel 4

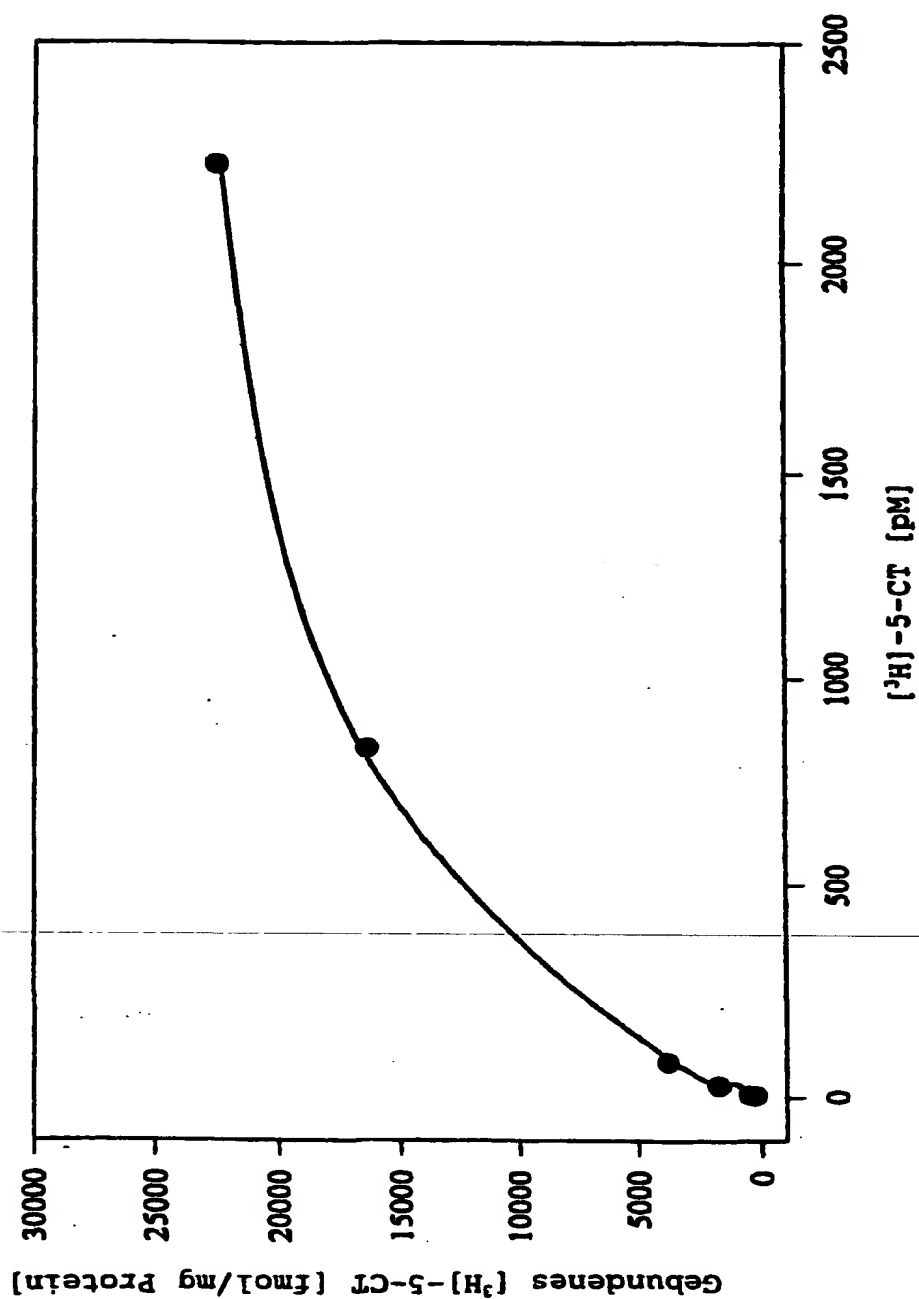
Gemäß Referenzbeispiel 6 wurde die Wirkstoff-induzierte Auswirkung auf intrazelluläre Calcium-Spiegel untersucht. Die Stimulierung der 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren mit R(+)-Lisurid (1 μM) in HEK293-Zellen induzierte einen Anstieg von intrazellulärem Ca<sup>2+</sup> (siehe Figur 5).

## Patentanspruch

1. Selektiver Bindungspartner für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren, dadurch gekennzeichnet, daß dessen Bindungsaffinität für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren größer ist als für einen oder mehrere von 5-HT<sub>5</sub> verschiedene 5-HT-Rezeptoren.  
5
2. Bindungspartner nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß dessen Bindungsaffinität für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren größer ist als für 5-HT<sub>1D</sub>- und/oder 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptoren.  
10
3. Bindungspartner nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß er die Bindung von 5-CT an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren kompetitiv hemmt.  
15
4. Bindungspartner nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die  $K_i$ -Werte für dessen Bindung an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren weniger als  $10^{-8}$  M, vorzugsweise weniger als  $10^{-9}$  M und insbesondere weniger als  $10^{-10}$  M betragen.  
20
5. Bindungspartner nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß dessen Bindung an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren die GTP-Bindung an G-Proteine stimuliert.  
25
6. Bindungspartner nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß dessen Bindung an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren eine Erhöhung des intrazellulären Calcium-Spiegels bewirkt.
- 30 7. Bindungspartner nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß dessen Bindung an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren eine Induktion der Phospholipase C-Aktivität bewirkt.
8. Bindungspartner nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß dessen Bindung an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren eine Induktion der cAMP-Produktion bewirkt.  
35
9. Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend wenigstens einen Bindungspartner nach einem der Ansprüche 1 bis 8 und einen pharmazeutisch verträglichen Exzipienten sowie gegebenenfalls weitere Wirkstoffe.  
40

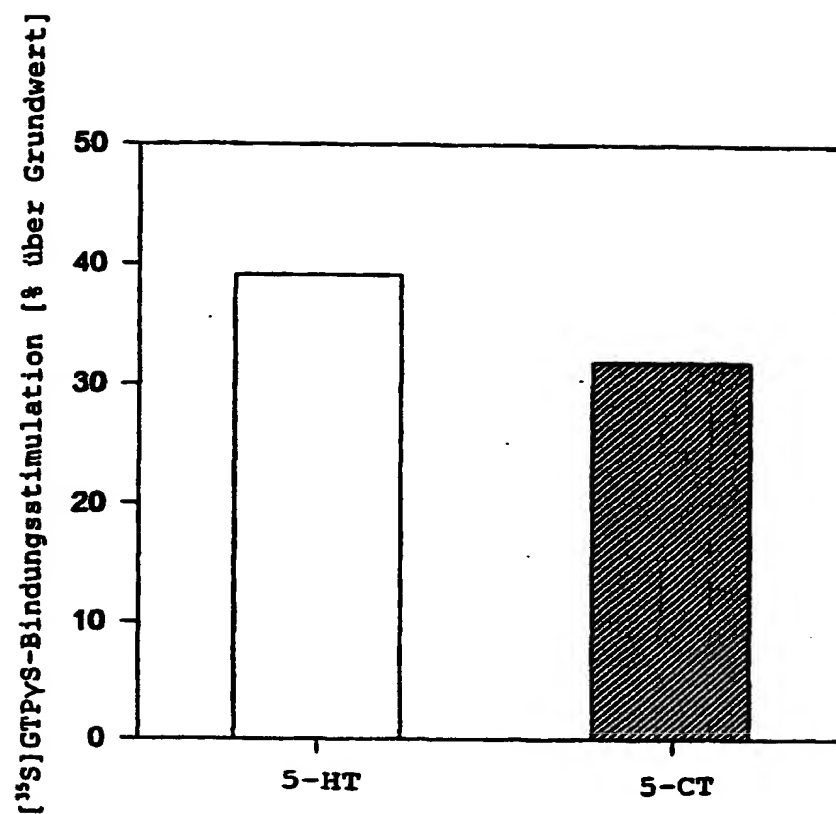
10. Verwendung eines Bindungspartners für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren zur Herstellung eines Mittels zur Behandlung cerebrovasculärer Störungen.
- 5 11. Verwendung nach Anspruch 10 zur Behandlung von Migräne, insbesondere zur akuten Behandlung von Migräne.
12. Verwendung nach Anspruch 10 oder 11 eines Bindungspartners nach einem der Ansprüche 1 bis 8.
- 10 13. Verfahren zur Bestimmung der Affinität von Bindungspartnern für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren, wobei man den Bindungspartner mit 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren aufweisenden zellulären Systemen in Kontakt bringt und die Bindungsaffinität bestimmt.
- 15 14. Verfahren zur Bestimmung der Aktivität von Bindungspartnern für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren, wobei man den Bindungspartner mit 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren aufweisenden zellulären Systemen in Kontakt bringt und wenigstens eine Bindungspartner-induzierte agonistische Wirkung bestimmt.
- 20 15. Verfahren nach Anspruch 14, wobei die Bindung von GTP an G-Proteine, intrazelluläre Calcium-Spiegel, die Phospholipase C-Aktivität und/oder die cAMP-Produktion bestimmt werden.
- 25 16. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 oder 15, dadurch gekennzeichnet, daß man humane Gliom-Zelllinien oder h5-HT<sub>5</sub>-transfizierte heterologe Zelllinien verwendet.
- 30 17. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß man h5-HT<sub>5</sub>-transfizierte CHO-Zellen, h5-HT<sub>5</sub>-transfizierte humane Nierenzellen, oder h5-HT<sub>5</sub>-transfizierte C-6-Gliomzellen verwendet.
- 35 18. In vitro-Screening-Verfahren zur Identifizierung eines 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptor-Bindungspartners, wobei wenigstens ein Verfahren nach den Ansprüchen 13 bis 17 zur Anwendung kommt.

1/5

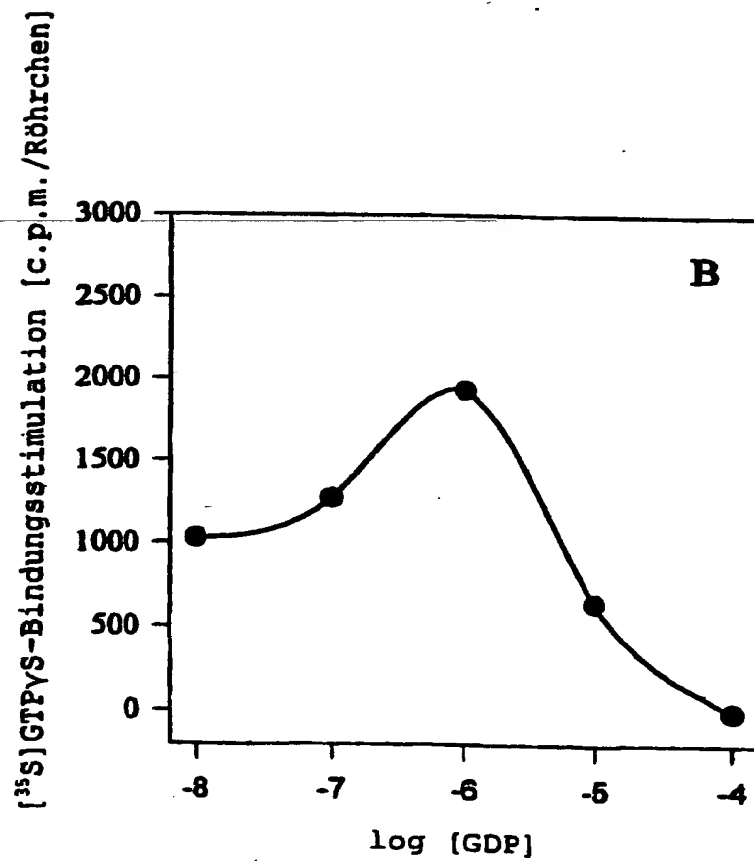
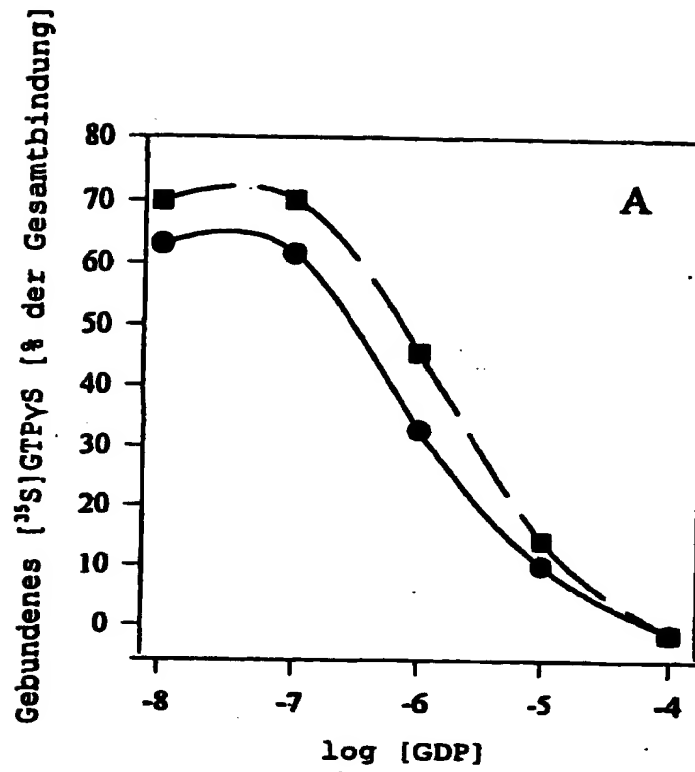
**Fig 1**



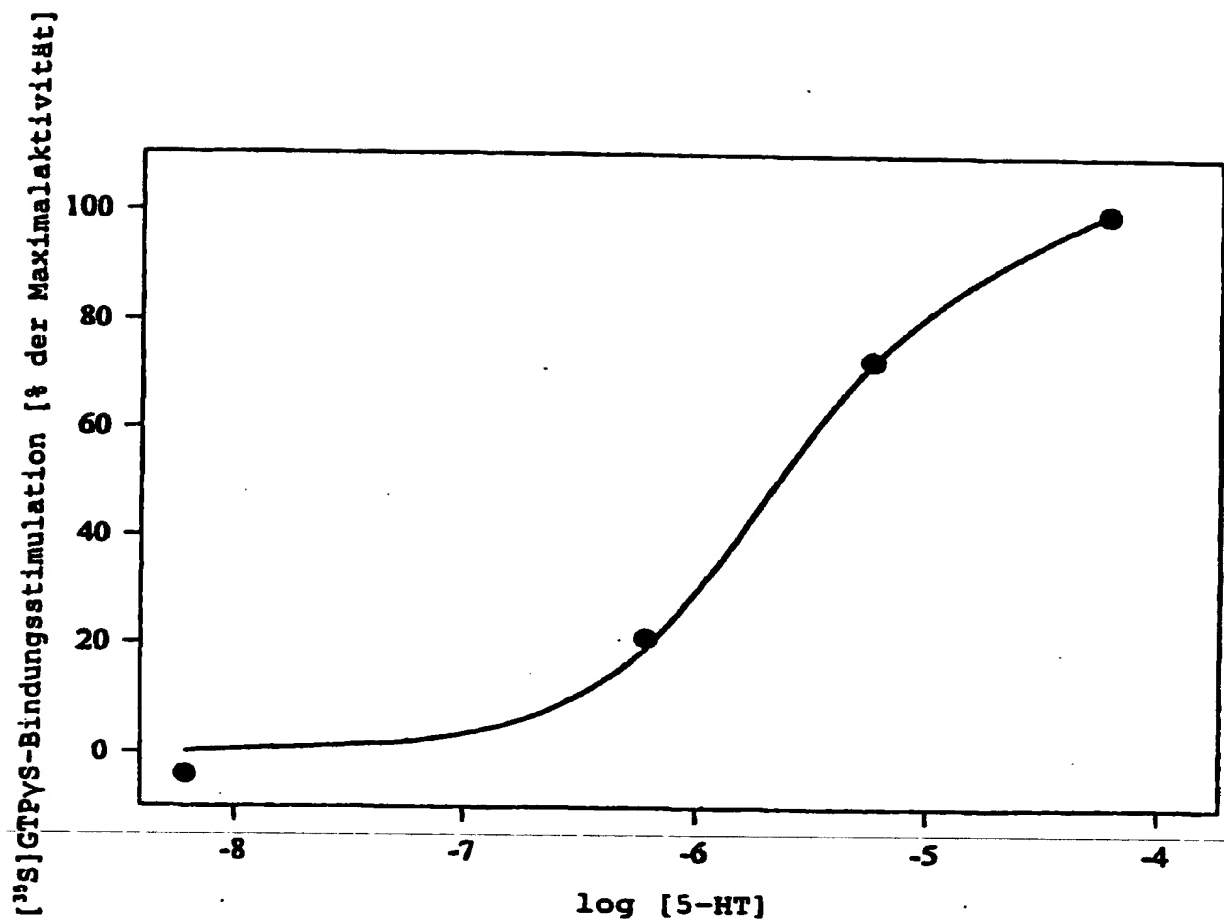
2/5

**Fig 2**

3/5

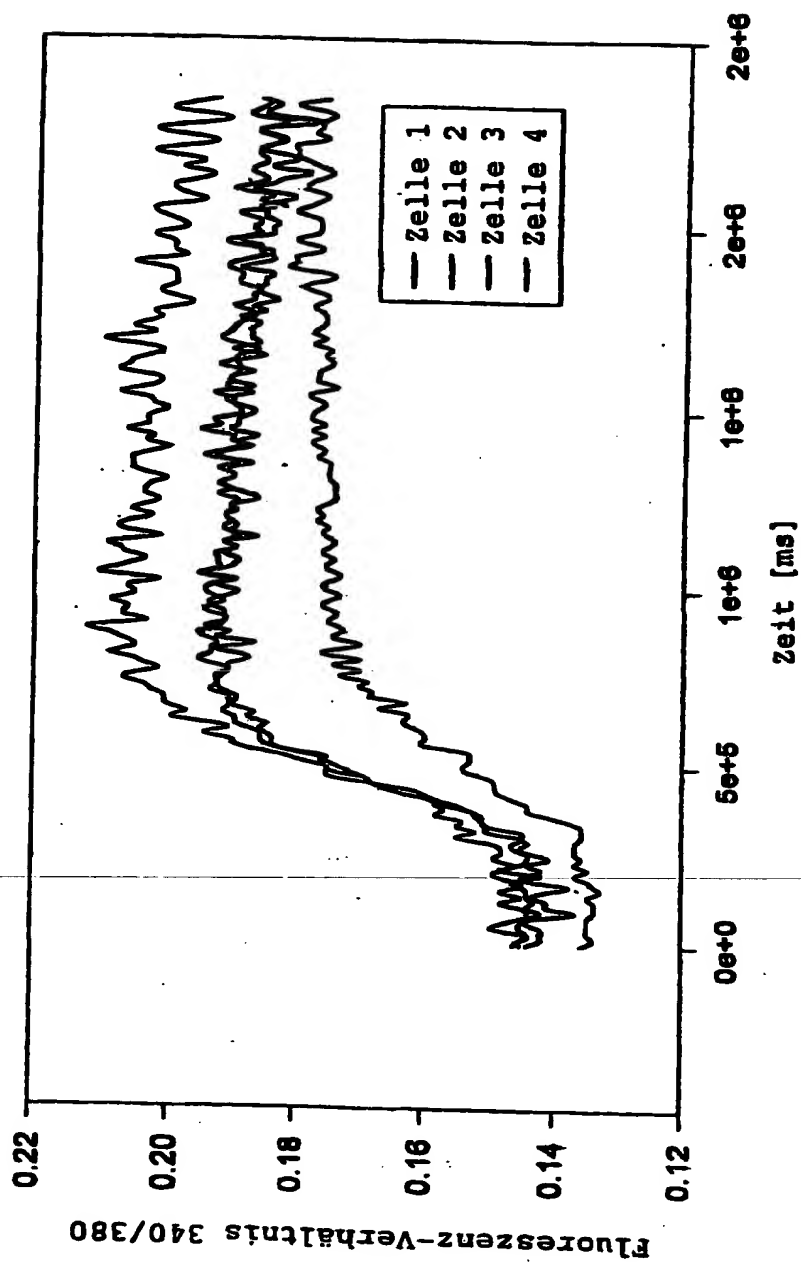
**Fig 3**

4/5

**Fig 4**

5/5

Fig 5



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/00142

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K31/135 A61K31/496 A61K31/4045 A61P25/06 A61K31/00  
G01N33/566

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K G01N C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data, EMBASE, MEDLINE, BIOSIS, SCISEARCH

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 94 18319 A (INST NAT SANTE RECH MED ;AMLAIKY NOURDINE (FR); BOSCHERT URSULA (F) 18 August 1994 (1994-08-18) page 5, line 26 -page 6, line 4; claims 18-20	1-9, 13-18
A	page 6, line 5 -page 7, line 2 table 1	10-12
X	WO 94 01555 A (INST NAT SANTE RECH MED ;AMLAIKY NOURDINE (FR); BOSCHERT URSULA (F) 20 January 1994 (1994-01-20) page 5, line 19 -page 6, line 2; claims 21-23	1-9, 13-18
A	page 6, line 3 - line 33 table 1	10-12
	--- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 March 2001

Date of mailing of the international search report

09.04.2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Griffith, G

International Application No  
PCT/EP 00/00142

International Application No  
PCT/EP 00/00142

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CARSON: "the 5ht5a..." GLIA, vol. 17, no. 4, 1996, pages 317-326, XP000913723 page 318, column 1, paragraph 2 -column 2, line 9 page 324, column 1, paragraph 1 page 319, column 1, paragraph 4 -column 2, line 26	1-8, 13-18
A	page 317, column 2 page 326, column 1, paragraph 2 ----	10-12
X	"Martindale" , PHARMACEUTICAL PRESS , LONDON XP002140026 1993 page 412, column 3, paragraph 3 page 415, column 3, paragraph 2 page 417, column 1 page 848, column 1, paragraph 3 ----	1-12
A	SHIMRON: "human 5ht5..." BIOCHEM. BIOPHYS. RES. COMMUN., vol. 233, no. 1, 1997, pages 6-9, XP000907456 page 6, column 1, paragraph 1 page 8, column 1 -column 2 ----	10-12
A	WEISS: "expression of..." METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, vol. 103, 1998, pages 227-239, XP002140017 page 228, paragraph 4 page 233, paragraph 3.1.3 ----	13-18
X	GB 2 105 192 A (COUGHLIN SHAUN R) 23 March 1983 (1983-03-23) table 4 page 6, line 45 - line 53 -----	1-9

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/00142

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9418319 A	18-08-1994	FR 2701265 A CA 2153162 A EP 0683817 A JP 8506244 T	12-08-1994 18-08-1994 29-11-1995 09-07-1996
WO 9401555 A	20-01-1994	FR 2693200 A CA 2139430 A EP 0651801 A JP 7508654 T US 5807691 A	07-01-1994 20-01-1994 10-05-1995 28-09-1995 15-09-1998
GB 2105192 A	23-03-1983	AU 8770282 A BE 894228 A DE 3232031 A FR 2511869 A IT 1153185 B JP 58065224 A US 4444778 A	03-03-1983 16-12-1982 05-05-1983 04-03-1983 14-01-1987 18-04-1983 24-04-1984

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 A61K31/135 A61K31/496 A61K31/4045 A61P25/06 A61K31/00  
G01N33/566

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61K G01N C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data, EMBASE, MEDLINE, BIOSIS, SCISEARCH

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 94 18319 A (INST NAT SANTE RECH MED ;AMLAIKY NOURDINE (FR); BOSCHERT URSULA (F) 18. August 1994 (1994-08-18) Seite 5, Zeile 26 -Seite 6, Zeile 4; Ansprüche 18-20	1-9, 13-18
A	Seite 6, Zeile 5 -Seite 7, Zeile 2 Tabelle 1	10-12
X	WO 94 01555 A (INST NAT SANTE RECH MED ;AMLAIKY NOURDINE (FR); BOSCHERT URSULA (F) 20. Januar 1994 (1994-01-20) Seite 5, Zeile 19 -Seite 6, Zeile 2; Ansprüche 21-23	1-9, 13-18
A	Seite 6, Zeile 3 - Zeile 33 Tabelle 1	10-12
	---	
	-/--	



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

29. März 2001

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

09. 04 2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Griffith, G



## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	CARSON: "the 5ht5a..." GLIA, Bd. 17, Nr. 4, 1996, Seiten 317-326, XP000913723 Seite 318, Spalte 1, Absatz 2 - Spalte 2, Zeile 9 Seite 324, Spalte 1, Absatz 1 Seite 319, Spalte 1, Absatz 4 - Spalte 2, Zeile 26	1-8, 13-18
A	Seite 317, Spalte 2 Seite 326, Spalte 1, Absatz 2 ----	10-12
X	"Martindale", PHARMACEUTICAL PRESS , LONDON XP002140026 1993 Seite 412, Spalte 3, Absatz 3 Seite 415, Spalte 3, Absatz 2 Seite 417, Spalte 1 Seite 848, Spalte 1, Absatz 3 ----	1-12
A	SHIMRON: "human 5ht5..." BIOCHEM. BIOPHYS. RES. COMMUN., Bd. 233, Nr. 1, 1997, Seiten 6-9, XP000907456 Seite 6, Spalte 1, Absatz 1 Seite 8, Spalte 1 - Spalte 2 ----	10-12
A	WEISS: "expression of..." METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, Bd. 103, 1998, Seiten 227-239, XP002140017 Seite 228, Absatz 4 Seite 233, Absatz 3.1.3 ----	13-18
X	GB 2 105 192 A (COUGHLIN SHAUN R) 23. März 1983 (1983-03-23) Tabelle 4 Seite 6, Zeile 45 - Zeile 53 -----	1-9

# INTERNATIONALER SÜCHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/00142

Im Recherchenbericht angeführt s Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9418319 A	18-08-1994	FR 2701265 A	12-08-1994
		CA 2153162 A	18-08-1994
		EP 0683817 A	29-11-1995
		JP 8506244 T	09-07-1996
WO 9401555 A	20-01-1994	FR 2693200 A	07-01-1994
		CA 2139430 A	20-01-1994
		EP 0651801 A	10-05-1995
		JP 7508654 T	28-09-1995
		US 5807691 A	15-09-1998
GB 2105192 A	23-03-1983	AU 8770282 A	03-03-1983
		BE 894228 A	16-12-1982
		DE 3232031 A	05-05-1983
		FR 2511869 A	04-03-1983
		IT 1153185 B	14-01-1987
		JP 58065224 A	18-04-1983
		US 4444778 A	24-04-1984

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☒ Claims Nos.: 1-9, 12  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

See supplemental sheet FURTHER INFORMATION PCT/ISA/210

3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

See supplemental sheet

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☒

No protest accompanied the payment of additional search fees.

Continuation of field I.2

Claims nos: 1-9, 12

The relevant patent claims nos. 1-12 relate to products, each characterized by a desired pharmacological profile, namely their activity as binding partners for 5-HT-5 receptors and their binding affinities.

The patent claims therefore cover all products having the aforementioned characteristic or characteristics, whereas in the patent application, the description only supports a small portion of said products, according to the terms of PCT Article 5. In the present case, the patent claims lack the appropriate support and the patent application lacks the required disclosure to such an extent that a meaningful search encompassing the entire scope of protection sought seems impossible. Aside from this, the patent claims also lack clarity under the terms of PCT Article 6 in attempting to define the product by its pharmacological profile. This absence of clarity is also such that it makes it impossible to conduct a meaningful and complete search encompassing the entire scope of protection sought.

As no compounds are specifically named in claims 1-9 and 12, a search for these claims is not possible. The search for the objects of claims 10 and 11 therefore only focussed on the inventive concept which underlies the application.

It is not clear whether the compositions in example 2 belong to the group of binding partners mentioned. These compounds were nevertheless included in the search with regard to the inventive concept.

Claims for which a complete search was carried out: None

Claims for which an incomplete search was carried out: 10-11

The applicant is therefore advised that patent claims, or sections of patent claims relating to inventions for which no international search report was drafted, cannot normally be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). EPO policy, when acting as an International Preliminary Examining Authority, is normally not to carry out a preliminary examination of subject matter, for which no search has been conducted. This is also the case, irrespective of whether the claims are amended following receipt of the international search report (PCT Article 19) or during any PCT Chapter II procedure whereby the applicant submits new patent claims.

The International Searching Authority found that this International Application contains several inventions or groups of inventions, as follows:

1. Claims nos: 10, 11  
Use of a binding partner for 5-HT<sub>5</sub> receptors to produce an agent for the treatment of cerebrovascular disorders, in particular for the treatment of migraines.
2. Claims nos: 13-18  
Method for determining the affinity of binding partners for 5-HT<sub>5</sub> receptors and an in-vitro screening method.

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents  
United States Patent and Trademark  
Office  
Box PCT  
Washington, D.C.20231  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

<b>Date of mailing (day/month/year)</b> 04 October 2000 (04.10.00)	in its capacity as elected Office
<b>International application No.</b> PCT/EP00/00142	<b>Applicant's or agent's file reference</b> M/40002-PCT
<b>International filing date (day/month/year)</b> 11 January 2000 (11.01.00)	<b>Priority date (day/month/year)</b> 11 January 1999 (11.01.99)
<b>Applicant</b> GARCIA-LADONA, Francisco, Javier	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

28 July 2000 (28.07.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was  
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<p><b>The International Bureau of WIPO</b>  <b>34, chemin des Colombettes</b>  <b>1211 Geneva 20, Switzerland</b></p> <p>Facsimile No.: (41-22) 740.14.35</p>	<p>Authorized officer</p> <p><b>Claudio Borton</b></p> <p>Telephone No.: (41-22) 338.83.38</p>
---	--

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

### INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>M/40002-PCT</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/ EP 00/ 00142</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>11/01/2000</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>11/01/1999</b>
Anmelder <b>KNOLL AKTIENGESELLSCHAFT et al.</b>		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 6 Blätter.



Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

#### 1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.



Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das



in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.



zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.



Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2.



**Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen** (siehe Feld I).

3.



**Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung** (siehe Feld II).

#### 4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

#### 5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

#### 6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. \_\_\_\_\_



wie vom Anmelder vorgeschlagen



weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.



weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.



keine der Abb.

## Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr.  
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
2. ☒ Ansprüche Nr. 1-9, 12  
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich  
siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210
3. ☐ Ansprüche Nr.  
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

## Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1. ☒ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☒ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.



WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 1-9,12

Die geltenden Patentansprüche 1-12 beziehen sich auf Produkte, jeweils charakterisiert durch ein gewünschtes pharmakologisches Profil, nämlich die Aktivität als Bindungspartnern für 5HT<sub>5</sub> Rezeptoren und dessen Bindungsaffinitäten.

Die Patentansprüche umfassen daher alle Produkte, die diese Eigenheit oder Eigenschaft aufweisen, wohingegen die Patentanmeldung Stütze durch die Beschreibung im Sinne von Art. 5 PCT nur für eine begrenzte Zahl solcher Produkte liefert. Im vorliegenden Fall fehlen den Patentansprüchen die entsprechende Stütze bzw. der Patentanmeldung die nötige Offenbarung in einem solchen Maße, daß eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich nicht ganz möglich erscheint. Desungeachtet fehlt den Patentansprüchen auch die in Art. 6 PCT geforderte Klarheit, nachdem das Produkt durch ihr pharmakologisches Profil definiert wird. Auch dieser Mangel an Klarheit ist dergestalt, daß er eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich macht.

Da keine Verbindungen spezifisch in den Ansprüchen 1-9 und 12 genannt worden sind, ist eine Recherche für diesen Ansprüche nicht möglich.

Daher wurde die Recherche für die Gegenstände der Ansprüchen 10,11, nur auf die erfinderischen Idee die der Anmeldung unterliegt gerichtet. Es ist nicht klar ob die Zusammensetzungen von Beispiel 2 zu die Gruppe der angesprochenen Bindungspartnern gehören. Dennoch sind diese Verbindungen in Hinblick auf die erfinderische Idee in der Recherche mitbezogen worden.

Ansprüche völlig gesucht: keinen.

Ansprüche nicht völlig gesucht: 10-11.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.

**WEITERE ANGABEN****PCT/ISA/ 210**

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 10,11

Verwendung eines Bindungspartners für 5-HT<sub>5</sub> Rezeptoren zur Herstellung eines Mittels zur Behandlung cerebrovasculärer Störungen insbesondere zur Behandlung von Migräne.

2. Ansprüche: 13-18

Verfahren zur Bestimmung der Affinität von Bindungspartner für 5-HT<sub>5</sub> Rezeptoren, und in-vitro-screening Verfahren.

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

TECH CENTER 1600/2900

MAY 01 2002

RECEIVED

Applicant's or agent's file reference M/40002-PCT	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP00/00142	International filing date (day/month/year) 11 January 2000 (11.01.00)	Priority date (day/month/year) 11 January 1999 (11.01.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61P9/00		
Applicant KNOLL AKTIENGESELLSCHAFT		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>7</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of <u>2</u> sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input checked="" type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 28 July 2000 (28.07.00)	Date of completion of this report 23 August 2001 (23.08.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/00142

## I. Basis of the report

## 1. With regard to the elements of the international application:\*

☐ the international application as originally filed☒ the description:

pages 1-22, as originally filed

pages, filed with the demand

pages, filed with the letter of

☒ the claims:

pages, as originally filed

pages, as amended (together with any statement under Article 19

pages, filed with the demand

pages 1-17, filed with the letter of 31 May 2001 (31.05.2001)

☒ the drawings:

pages 1/5-5/5, as originally filed

pages, filed with the demand

pages, filed with the letter of

☐ the sequence listing part of the description:

pages, as originally filed

pages, filed with the demand

pages, filed with the letter of

## 2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language which is:

☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

## 3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

☐ contained in the international application in written form.☐ filed together with the international application in computer readable form.☐ furnished subsequently to this Authority in written form.☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:☐ the description, pages☐ the claims, Nos.☐ the drawings, sheets/fig5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/00142

## III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
- ☒ claims Nos. 1-17

because:

- ☐ the said international application, or the said claims Nos. \_\_\_\_\_  
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. \_\_\_\_\_  
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

- ☐ the claims, or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so inadequately supported  
by the description that no meaningful opinion could be formed.

- ☒ no international search report has been established for said claims Nos. 1-17

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

- ☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.
- ☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: BOXES III and IV

**Box III****Non-establishment of opinion with regard to novelty,  
inventive step and industrial applicability**

The selectivity of the binding affinity for 5-HT<sub>5</sub> receptors in comparison with 5-HT<sub>1D</sub> receptors described in **Claims 1-17** was not the subject matter of the originally filed claims and examples and was therefore not searched. The subject matter of these claims has therefore not been completely searched.

Since the substances as per **Claims 11-17** are only functionally defined and hence insufficiently clear (PCT Article 6), these claims could only be incompletely searched, if at all (see also Box VIII, objection for lack of clarity). Consequently, an opinion with regard to novelty and inventive step was established only for the searched parts of said claims.

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 00/00142

**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**

## 1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-10	YES
	Claims	11-17	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-17	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-17	YES
	Claims		NO

## 2. Citations and explanations

1. The present application concerns *in vitro* screening methods for identifying selective binding partners for 5-HT<sub>5</sub> receptors (Claims 1-10) and their use for producing medicaments for treating cerebrovascular diseases such as migraine (Claims 10-12).

2. This report makes reference to the following document; if not indicated otherwise, the relevant passages are those cited in the international search report.

D4: CARSON: "the 5ht5a...", GLIA, Vol. 17, No. 4, 1996, pages 317-326, XP000913723

3. Document D4 describes the use of the serotonin antagonists dihydroergotamine, methysergide, sumatriptan and lysuride for treating migraine.

4. **Novelty (PCT Article 33(2))**

No compounds are indicated in the present application for **Claims 11-17**. It is not clear whether the compositions in Example 2 belong to the group of the binding partners in question. For the

following assessment of novelty, it was assumed that at least methiothepin and dihydroergotamine fall under the claimed compounds (see also Box VIII, objection under PCT Article 5).

The use of the claimed substance dihydroergotamine for treating migraine is known (D4). **Claims 11-17** are therefore not novel (PCT Article 33(2)).

The cited prior art does not mention the examination of the binding affinity for 5-HT<sub>1D</sub> receptors in a screening method in order to identify compounds for treating cerebrovascular diseases. **Claims 1-10** therefore appear to be novel (PCT Article 33(2)).

**5. Inventive step (PCT Article 33(3))**

The present application does not give any example of a substance that would have been identified by the claimed screening method. **Claims 1-10** are therefore not inventive (PCT Article 33(3)).

Since **Claims 11-17** are not novel (PCT Article 33(2)), they are not inventive either (PCT Article 33(3)).

**6. Industrial applicability**

In the PCT Contracting States, there are no uniform criteria for assessing the industrial applicability of **Claims 11-17** in their present form. Patentability can also depend on the wording of the claims. The EPO, for example, does not recognise the industrial applicability of claims to the use of a compound in a medical treatment; it does, however, allow claims



**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.

PCT/EP 00/00142

to the first use of a known compound in a medical treatment or to the use of such a compound in the manufacture of a drug for a new medical treatment.

09/869814

Translation

## PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

RECEIVED  
SEP 25 2001  
TECH CENTER 1600/280

Applicant's or agent's file reference M/40002-PCT	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP00/00142	International filing date (day/month/year) 11 January 2000 (11.01.00)	Priority date (day/month/year) 11 January 1999 (11.01.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61P 9/00		
Applicant KNOLL AKTIENGESELLSCHAFT		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>10</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of _____ sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input checked="" type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input checked="" type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input checked="" type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 28 July 2000 (28.07.00)	Date of completion of this report 11 May 2001 (11.05.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/00142

## I. Basis of the report

## 1. With regard to the elements of the international application:\*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:  
pages 1-22, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☒ the claims:  
pages 1-18, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☒ the drawings:  
pages 1/5-5/5, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing part of the description:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.  
These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/00142

## III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application.

☒ claims Nos. 1-12(partially)

because:

☐ the said international application, or the said claims Nos. \_\_\_\_\_  
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. \_\_\_\_\_  
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so inadequately supported  
by the description that no meaningful opinion could be formed.

☒ no international search report has been established for said claims Nos. 1-12

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.

☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/00142

## IV. Lack of unity of invention

1. In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:

- ☐ restricted the claims.
- ☐ paid additional fees.
- ☐ paid additional fees under protest.
- ☐ neither restricted nor paid additional fees.

2. ☒ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.

3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is

- ☐ complied with.
- ☒ not complied with for the following reasons:

See annex

4. Consequently, the following parts of the international application were the subject of international preliminary examination in establishing this report:

- ☒ all parts.
- ☐ the parts relating to claims Nos. \_\_\_\_\_

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: BOXES III and IV

**Box III, item 1****Non-establishment of opinion with regard to novelty,  
inventive step and industrial applicability**

Since the substances as per **Claims 1-12** are only functionally defined, these claims could only be incompletely searched, if at all (see also Box VIII, objection for lack of clarity). Consequently, an opinion with regard to novelty and inventive step was established only for the searched parts of said claims.

**Box IV, item 3****Lack of unity of invention**

The objection raised by the search department for lack of unity of invention is upheld.

The various groups of inventions are:

1. Claims 1-12:

Binding partners for 5-HT<sub>5</sub> receptors and their use for producing a medicament.

2. Claims 13-18:

Method for determining the affinity of binding partners for 5-HT<sub>5</sub> receptors, and *in vitro* screening method.

These inventions or groups of inventions are not so linked as to form a single general inventive concept (PCT Rule 13.1) because the subject matter that links the

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 00/00142

## Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: BOXES III and IV

present groups of inventions are the selective binding partners for 5-HT<sub>5</sub> receptors. Since these are not novel (see Box V.4), they cannot serve as the linking inventive concept.

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 00/00142

**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

Novelty (N)	Claims	14-17	YES
	Claims	1-12 (partially), 13, 18	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-12 (partially), 13-18	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-18	YES
	Claims		NO

**2. Citations and explanations**

1. The present application concerns selective binding partners for 5-HT<sub>5</sub> receptors (Claims 1-9), their use for producing medicaments for treating cerebrovascular diseases such as migraine (Claims 10-12) and methods for identifying these compounds, in particular screening methods (Claims 13-18).
2. This report makes reference to the following documents; if not indicated otherwise, the relevant passages are those cited in the international search report.

- D1: WO-A-94/18319 (INST. NAT. SANTE RECH. MED; AMLAIKY NOURDINE (FR); BOSCHERT URSULA (F)), 18 August 1994 (1994-08-18)
- D2: WO-A-94/01555 (INST. NAT. SANTE RECH. MED; AMLAIKY NOURDINE (FR); BOSCHERT URSULA (F)), 20 January 1994 (1994-01-20)
- D3: GB-A-2 105 192 (COUGHLIN SHAUN R.), 23 March 1983 (1983-03-23)
- D4: CARSON: "the 5ht<sub>5a</sub>...", GLIA, Vol. 17, No. 4, 1996, pages 317-326, XP000913723
- D5: "Martindale", PHARMACEUTICAL PRESS, LONDON XP002140026, 1993



D6: SHIMRON, "human 5ht5...", BIOCHEM. BIOPHYS. RES. COMMUN., Vol. 233, No. 1, 1997, pages 6-9, XP000907456

D7: WEISS: "expression of...", METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, Vol. 103, 1998, pages 227-239, XP002140017.

3. Document D1 describes the isolation of ligands of the 5-HT5b polypeptide by bringing substances in contact with recombinant cells which express this polypeptide through their surface. In particular, these ligands are serotonin agonists and antagonists for the 5-HT5b polypeptide. These ligands are suitable for treating neurological, cardiovascular and psychiatric diseases. Methiothepin, for which an affinity with the value  $pK_i$  7.8 has been determined, is an example of a suitable ligand.

Document D2 describes the same selection method as D1, but without indicating suitable ligand examples.

Document D3 describes the transfection of CHO, HeLa, COS and 3T3 NIH fibroblasts with 5-HT5a and 5-HT5b receptors. The transfection of glia cell cultures with these receptors led after a treatment with serotonin to a cAMP rise.

Document D4 describes the use of the serotonin antagonists dihydroergotamine, methysergide, sumatriptan and lysuride for treating migraine.

Document D5 describes the significance of the 5HT5a receptor for migraine.

Document D6 describes a method for measuring the affinity of 5-HT-5a receptor ligands to recombinant cells which express this receptor.

Document D7 describes the treatment with methiothepin for preventing the proliferation of smooth muscle cells after an injury.

**4. Novelty (PCT Article 33(2))**

No compounds are indicated in the present application for Claims 1-12. It is not clear whether the compositions in Example 2 belong to the group of the binding partners in question. For the following assessment of novelty, it was assumed that at least methiothepin falls under the claimed compounds (see also Box VIII, objection under PCT Article 5).

D1 and D7 disclose the 5-HT<sub>5</sub> binding partner methiotepin and are therefore prejudicial to the novelty of **Claims 1-12** (PCT Article 33(2)).

Moreover, the subject matter of Claims 10 and 11, the migraine therapeutic drugs which bind to the 5-HT<sub>5</sub> receptor (description of the present application), has been disclosed in D4.

D1, D2 and D6 describe affinity determination methods as claimed in the present application. Their use as screening methods is contained in D1 and d2. **Claims 13 and 18** are therefore not novel (PCT Article 33(2)).

The subject matter of **Claims 14-17** is not found in the prior art and is therefore novel (PCT Article 33(2)).

**5. Inventive step (PCT Article 33(3))**

**Claims 14-17:**

D1, which is considered the closest prior art,

discloses a method for determining the affinity of 5-HT5 ligands from which the subject matter of Claim 14 differs in that the agonistic effect of the binding partner is determined. The present invention can therefore be considered to address the problem of devising alternative methods for determining the affinity of 5-HT5 ligands. The solution proposed in Claim 14 of the present application cannot be considered inventive (PCT Article 33(3)) for the following reasons:

D3 describes the cAMP rise as an agonistic effect of serotonin on 5-HT5 receptors and therefore suggests to a person skilled in the art to use this parameter for determining the affinity of 5-HT5 receptors. The additional features of Claims 15-17 are also found in D3 and are therefore not inventive either (PCT Article 33(3)).

#### **6. Industrial applicability**

In the PCT Contracting States, there are no uniform criteria for assessing the industrial applicability of **Claims 10-12** in their present form. Patentability can also depend on the wording of the claims. The EPO, for example, does not recognise the industrial applicability of claims to the use of a compound in a medical treatment; it does, however, allow claims to the first use of a known compound in a medical treatment or to the use of such a compound in the manufacture of a drug for a new medical treatment.

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.

PCT/EP 00/00142

**VII. Certain defects in the international application**

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

The first sentence on page 3, paragraph 7, of the description is incomplete.

**VIII. Certain observations on the international application**

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

No compounds have been indicated in the present application for **Claims 1-12**. It is not clear whether the compositions in Example 2 belong to the group of the binding partners in question. The description therefore does not disclose the invention in a sufficiently clear and complete manner which would enable a person skilled in the art to carry it out over the whole scope of the claims. It therefore contravenes PCT Article 5.

**Claims 1-12** are not clear and do not meet the requirements of PCT Article 6 because the subject matter for which protection is sought is not clearly defined. The functional indication, "binding partner for 5-HT<sub>5</sub> receptors", does not allow a person skilled in the art to ascertain what technical features are necessary to fulfil this function.

## Patentansprüche

1. An in vitro screening process for the identification of compounds for the treatment of cerebrovascular disorders, which comprises determining the affinity of compounds for 5-HT<sub>5</sub> receptors and reading out those 5-HT<sub>5</sub> binding partners whose binding affinity for 5-HT<sub>5</sub> receptors is greater than their binding affinity for 5-HT<sub>1D</sub> receptors.
2. The process as claimed in claim 1, where those compounds are read out whose binding affinity for 5-HT<sub>5</sub> receptors is greater by at least the factor 2 than their binding affinity for 5-HT<sub>1D</sub> receptors.
3. The process as claimed in claim 1, where those compounds are read out whose binding affinity for 5-HT<sub>5</sub> receptors is greater by at least the factor 5 than their binding affinity for 5-HT<sub>1D</sub> receptors.
4. The process as claimed in one of the preceding claims, where those compounds are read out whose K<sub>i</sub> value for binding to 5-HT<sub>5</sub> receptors is also less than 10<sup>-8</sup> M.
5. The process as claimed in one of the preceding claims, where also at least one 5-HT<sub>5</sub> binding partner-induced action is determined.
6. The process as claimed in claim 5, where those compounds are read out whose action is agonistic.
7. The process as claimed in claim 5 or claim 6, where the binding of GTP to G proteins, intracellular calcium levels, the phospholipase C activity and/or the cAMP production are determined.
8. The process as claimed in one of the preceding claims, where, for determining binding affinity and/or activity, the compounds are brought into contact with cellular systems having 5-HT<sub>5</sub> receptors.
9. The process as claimed in claim 8, where human glioma cell lines or h5-HT<sub>5</sub>-transfected heterologous cell lines are used.

10. The process as claimed in claim 9, where h5-HT5-transfected CHO cells, h5-HT5-transfected human kidney cells, or h5-HT5-transfected C-6 glioma cells are used.
- 5 11. The use of at least one binding partner for 5-HT5 receptors whose binding affinity for 5-HT5 receptors is greater than their binding affinity for 5-HT1D receptors, for the production of an agent for the treatment of cerebrovascular disorders.
- 10 12. The use as claimed in claim 11, where the binding affinity of the binding partner for 5-HT5 receptors is greater by at least the factor 2 than its binding affinity for 5-HT1D receptors.
- 15 13. The use as claimed in claim 11, where the binding affinity of the binding partner for 5-HT5 receptors is greater by at least the factor 2 than its binding affinity for 5-HT1D receptors.
- 20 14. The use as claimed in one of claims 11 to 13, where the  $K_1$  value for binding of the binding partner to 5-HT5 receptors is less than  $10^{-8}$  M.
- 25 15. The use as claimed in one of claims 11 to 14, where the binding partner is a 5-HT5 agonist.
16. The use as claimed in one of claims 11 to 15, for the treatment of migraine.
- 30 17. The use as claimed in claim 16, for the acute treatment of migraine.
- 

35

40

45

## Patentansprüche

1. In vitro-Screening-Verfahren zur Identifizierung von Verbindungen zur Behandlung cerebrovasculärer Störungen, dadurch gekennzeichnet, daß man die Affinität von Verbindungen für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren bestimmt und diejenigen 5-HT<sub>5</sub>-Bindungspartner ausliest, deren Bindungsaffinität für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren größer ist als deren Bindungsaffinität für 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptoren.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man diejenigen Verbindungen ausliest, deren Bindungsaffinität für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren mindestens um den Faktor 2 größer ist als deren Bindungsaffinität für 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptoren.
3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man diejenigen Verbindungen ausliest, deren Bindungsaffinität für 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren mindestens um den Faktor 5 größer ist als deren Bindungsaffinität für 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptoren.
4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß man diejenigen Verbindungen ausliest, deren  $K_i$ -Wert für die Bindung an 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren auch weniger als  $10^{-8}$  M beträgt.
5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß man auch wenigstens eine 5-HT<sub>5</sub>-Bindungspartner-induzierte Wirkung bestimmt.
6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß man diejenigen Verbindungen mit einer agonistischen Wirkung ausliest.
7. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Bindung von GTP an G-Proteine, intrazelluläre Calcium-Spiegel, die Phospholipase C-Aktivität und/oder die cAMP-Produktion bestimmt werden.
8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß man zur Bestimmung der Bindungsaffinität und/oder Aktivität die Verbindungen mit 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren aufweisenden zellulären Systemen in Kontakt bringt.
9. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß man humane Gliom-Zelllinien oder h5-HT<sub>5</sub>-transfizierte heterologe Zelllinien verwendet.



10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß man h5-HT5-transfizierte CHO-Zellen, h5-HT5-transfizierte humane Nierenzellen, oder h5-HT5-transfizierte C-6-Gliomzellen verwendet.
- 5
11. Verwendung wenigstens eines Bindungspartners für 5-HT5-Rezeptoren, dessen Bindungsaffinität für 5-HT5-Rezeptoren größer ist als dessen Bindungsaffinität für 5-HT1D-Rezeptoren, zur Herstellung eines Mittels zur Behandlung cerebrovasculärer Störungen.
- 10
12. Verwendung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Bindungsaffinität des Bindungspartners für 5-HT5-Rezeptoren mindestens um den Faktor 2 größer ist als dessen Bindungsaffinität für 5-HT1D-Rezeptoren.
- 15
13. Verwendung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Bindungsaffinität des Bindungspartners für 5-HT5-Rezeptoren mindestens um den Faktor 5 größer ist als dessen Bindungsaffinität für 5-HT1D-Rezeptoren.
- 20
14. Verwendung nach einem der Ansprüche 11 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß der  $K_1$ -Wert für die Bindung des Bindungspartners an 5-HT5-Rezeptoren weniger als  $10^{-8}$  M beträgt.
- 25
15. Verwendung nach einem der Ansprüche 11 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß der Bindungspartners ein 5-HT5-Agonist ist.
16. Verwendung nach einem der Ansprüche 11 bis 15, zur Behandlung von Migräne.
- 30
17. Verwendung nach Ansprch 16, zur akuten Behandlung von Migräne.
- 

35

40

45